

# RP-HPLC 同时测定抗溶血颗粒中芍药苷与橙皮苷含量

王洪志<sup>\*</sup>, 范俊婷, 刘 勇, 李婉晴  
(天津市南开医院, 天津 300100)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法(HPLC)同时测定抗溶血颗粒中芍药苷与橙皮苷的含量。方法: 色谱柱为 TIANHE-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 10 μm), 流动相: 甲醇-1% 磷酸(35: 65), 检测波长 270 nm, 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为 30 °C。结果: 芍药苷在 0.198 4~ 0.992 μg 范围内线性良好,  $r = 0.997 9$ ; 橙皮苷在 0.211 2~ 1.056 μg 范围内线性良好,  $r = 0.999 3$ ; 样品平均回收率为: 橙皮苷 99.08%, RSD= 1.47%; 芍药苷 100.67%, RSD= 1.60%。结论: 高效液相法可靠、准确, 专属性强, 重复性好, 可用于该制剂质量控制。

[关键词] 抗溶血颗粒; 高效液相色谱法; 芍药苷; 橙皮苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)06-0024-03

## Determination of paeoniflorin and hesperidin in Antihemolysis Granule by RP-HPLC

WANG Hong-zhi<sup>\*</sup>, FAN Jun-ting, LIU Yong, LI Wan-qing  
(Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the contents of paeoniflorin and hesperidin in Antihemolysis Granule. **Methods:** A Tianhe C<sub>18</sub> Column was used with methanol-1% Phosphoric acid (35: 65) as the mobile phase at the flow rate of 1.0ml/min. The detecting wavelength was set at 270 nm. **Results** The linearity of paeoniflorin was good in the range of 0.198 4~ 0.992 μg ( $r = 0.997 9$ ), The linearity of hesperidin was good in the range of 0.211 2~ 1.056 μg ( $r = 0.999 3$ ). The average recovery of paeoniflorin was 99.08%, RSD= 1.47% ( $n = 6$ ). The average recovery of hesperidin was 100.67%, RSD= 1.60% ( $n = 6$ ). **Conclusion:** The method is simple, reliable, accurate, and can be applied as the quality control method of Antihemolysis Granule.

[Key words] Antihemolysis Granule; HPLC; paeoniflorin; hesperidin

抗溶血颗粒主要由益母草、赤芍、陈皮、川芎、山药等组成, 具有补脾健胃, 增强免疫的功效, 为了有效控制该制剂质量, 采用 RP-HPLC 法, 同时测定方中赤芍主要成分芍药苷, 陈皮的主要成分橙皮苷的含量, 建立了可靠准确、专属性强的质量控制方法。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-10AT), 威玛龙色谱数据工作站, MP200A 型电子天平(上海第二

天平仪器厂), LIBROR AEG-120 型电子天平 (SHIMADZU CORPORATION), TDA 系列温度显示调节仪 8002 型水浴锅(天津市中环科技开发公司), KQ3200 超声波清洗器(昆山市超声波仪器厂)。

1.2 试剂 芍药苷、橙皮苷(中国药品生物制品检定所购置, 为含量测定用对照品), 不同批次抗溶血颗粒样品 3 批(20080130, 20080522, 20080618), 实验用阴性对照品采用与样品抗溶血颗粒相同工艺制备; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性实验 色谱柱: TIANHE-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 10 μm) 分析柱; 流动

[收稿日期] 2008-12-15

[通讯作者] \* 王洪志, Tel: (022) 23540116; Email: down9669@yahoo.com

相: 甲醇-1% 磷酸(35: 65); 检测波长 270 nm, 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷与橙皮苷制成含芍药苷为 100 μg·mL<sup>-1</sup>、含橙皮苷为 104 μg·mL<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。结果见图 1。

**2.3 供试品溶液的制备** 取抗溶血颗粒适量, 研细, 精密称取 2.0 g, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加含 5% 盐酸的 50% 乙醇 20 mL, 称重, 水浴加热回流 30 min, 放冷, 再称定重量, 用含 5% 盐酸的 50% 乙醇补足减

失的重量, 摇匀, 精密量取 5 mL, 加水 20 mL, 摇匀, 用水饱和正丁醇振摇提取 3 次, 每次 25 mL, 水层弃去, 合并正丁醇层, 用正丁醇饱和的水清洗 5 次, 每次 50 mL, 收集正丁醇层, 减压蒸干, 用甲醇定溶至 25 mL, 摇匀, 即得。结果见图 1。

**2.4 阴性样品溶液的制备** 按处方药味比例, 配制不含赤芍与陈皮的模拟制剂, 按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。结果见图 1。

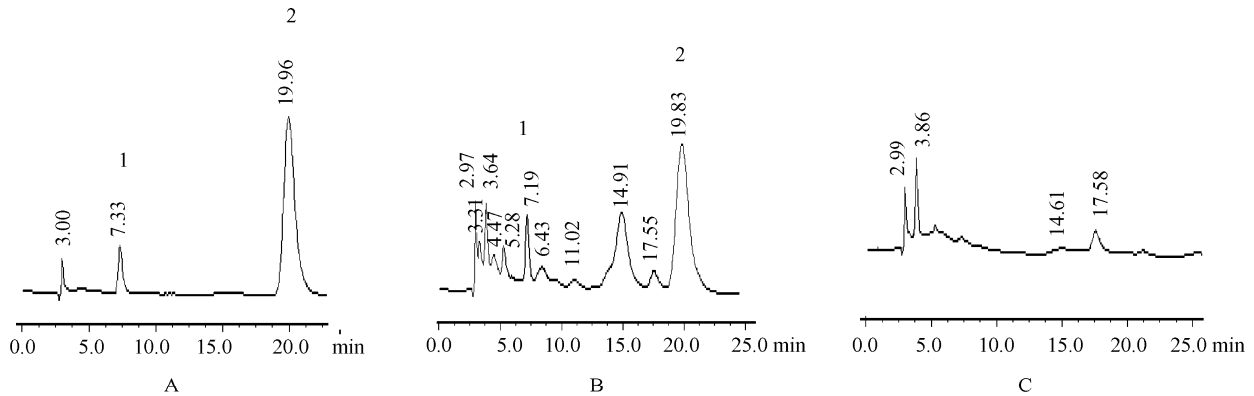


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 芍药苷; 2. 橙皮苷

**2.5 标准曲线的制备** 取芍药苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 mL 含 99.2 μg 的溶液, 另取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 mL 含 105.6 μg 的溶液, 作为储备液。分别精密量取上述储备液 2, 4, 6, 8, 10 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别精密吸取上述 6 种浓度的对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定各自峰面积, 以对照品浓度(μg·mL<sup>-1</sup>)为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 进行回归, 回归方程: 芍药苷  $Y = 2.13 \times 10^4 X + 2.74 \times 10^3$ ,  $r = 0.9979$ ; 橙皮苷  $Y = 2.13 \times 10^5 X - 5.39 \times 10^3$ ,  $r = 0.9993$ 。结果表明芍药苷在 0.198 4~ 0.992 μg 范围内线性良好, 橙皮苷在 0.211 2~ 1.056 μg 范围内线性良好。

**2.6 精密度试验** 取对照品溶液, 连续进样 5 次, 测其峰面积积分值, 考察仪器精密度。芍药苷峰面积值的 RSD 为 1.94%; 橙皮苷峰面积值的 RSD 为 0.44%。

**2.7 重复性试验** 取同一批次样品, 取 6 份, 研细, 取 2.0 g, 按照供试品溶液的制备方法, 测定每份样品中芍药苷、橙皮苷含量。结果样品中芍药苷平均含量为 1.43 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 1.84%, 橙皮苷平均含量为 1.70 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 1.96%。

**2.8 稳定性试验** 取同一批次样品 1 份, 研细, 取 2.0 g, 按照供试品溶液的制备方法, 分别在 0, 3, 9, 14, 17 h, 测定样品中芍药苷与橙皮苷峰面积 RSD 分别为 1.03%, 1.88%, 考察结果表明, 芍药苷、橙皮苷在 17 h 内稳定。

**2.9 加样回收率试验** 精密称定已知含量的供试品适量, 分别加入一定量的对照品, 按供试品溶液的制备方法制备。结果芍药苷平均回收率为 99.08%, RSD 为 1.47%, 橙皮苷平均回收率为 100.67%, RSD 为 1.60%。结果见表 1~ 2。

表 1 芍药苷回收率试验

编号	取样量 (g)	样品中含 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.499 9	0.714 9	0.80	1.508	99.03		
2	0.498 8	0.713 3	0.80	1.507	99.12		
3	0.499 8	0.714 7	0.80	1.500	97.94	99.08	1.47
4	0.500 2	0.715 3	0.80	1.514	99.82		
5	0.500 2	0.715 3	0.80	1.508	98.98		
6	0.500 0	0.715 0	0.80	1.512	99.58		

**2.10 样品测定** 取 3 个批次的样品, 按照供试品溶液制备方法, 配制对照品混合溶液, 芍药苷为 60 μg·mL<sup>-1</sup>、橙皮苷 65 μg·mL<sup>-1</sup>。吸取对照品溶液及供试品溶液 10 μL, 进样, 记录色谱图, 以外标法计算样品中芍药苷和橙皮苷的含量。结果见表 3。

(下转第 28 页)

表 2 橙皮苷回收率试验

编 号	取样量 (g)	样品中 含量(mg)	对照品加 入量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1	0.499 9	0.849 8	0.85	1.715	101.78		
2	0.498 8	0.848 0	0.85	1.695	99.65		
3	0.499 8	0.849 7	0.85	1.708	100.98	100.67	1.60
4	0.500 2	0.850 3	0.85	1.707	100.79		
5	0.500 2	0.850 3	0.85	1.713	100.55		
6	0.500 0	0.850 0	0.85	1.702	100.24		

表 3 3 批次样品含量测定结果

批号	芍药苷 ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	平均 ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	橙皮苷 ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	平均 ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
20080130	1.435	1.452	1.702	1.729
	1.468		1.756	
20080522	1.627	1.611	1.584	1.599
	1.594		1.613	
20080618	1.645	1.635	1.628	1.634
	1.625		1.639	

### 3 讨论

本实验对样品的提取条件进行了筛选,分别用 50% 乙醇、0.5% 盐酸乙醇(50%) 与 1.0% 盐酸乙醇(50%), 进行提取,提取时间为 0.5 h 与 1.0 h。结果表明,用 0.5% 盐酸乙醇(50%) 提取 0.5 h,可使芍药苷、橙皮苷色谱峰免除杂质峰的干扰,峰形好。

芍药苷与橙皮苷的最大吸收为 230 nm 和 283  $\text{nm}^{[1]}$ ,为了提高对两种成分检测灵敏度,本试验选择 270 nm 为检测波长。

本实验建立的反相高效液相色谱法,采用一种流动相,可以同时测定抗溶血颗粒中芍药苷与橙皮苷的含量,操作简便快捷,重复性、稳定性好,结果可靠准确,可作为抗溶血颗粒剂的质量标准控制。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京: 化学工业出版社, 2005: 109, 132.