

• 质量标准 •

# 高效液相色谱法测定同仁牛黄清心片中芍药苷的含量

李志猛<sup>1</sup>, 杜树山<sup>2</sup>, 李向日<sup>1,3\*</sup>

(1. 北京同仁堂股份有限公司科学研究所, 北京 100079; 2. 北京师范大学, 北京 100875;  
3. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 采用反相高效液相色谱法测定同仁牛黄清心片中芍药苷的含量。方法: 以甲醇-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾(25:75)为流动相, Symmetry Shield<sup>TM</sup> Rp<sub>18</sub>(3.9 mm × 150 mm, 5 μm)为固定相, 流速为0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为230 nm, 柱温为30 °C。结果: 芍药苷在0.102 6~0.513 0 μg范围内呈现良好的线性关系, 回收率为98.94%, RSD为2.05%。结论: 该方法简单、准确、灵敏度高可用于同仁牛黄清心片中芍药苷的含量检测。

[关键词] 同仁牛黄清心片; 芍药苷; 含量

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)05-0001-03

## Quantitative Determination of Paeoniflorin in TongRen Niu Huang Qingxin Tablet by HPLC

LI Zhi-meng<sup>1</sup>, DU Shu-shan<sup>2</sup>, LI Xiang-ri<sup>1,3\*</sup>

(1. Scientific Research Institute of Beijing Tongrentang Pharmaceutical Company, Beijing 100079, China;  
2. Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 3. School of Chinese medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for quantitative determination of paeoniflorin in Tongren Niu Huang Qingxin Tablet. **Method:** The chromatographic column was Symmetry Shield<sup>TM</sup> Rp<sub>18</sub>(3.9 mm × 150 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.05 mol·L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate(25:75) with a flow velocity of 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 230 nm, and the column temperature was 30 °C. **Results:** It was showed that paeoniflorin had a good linear relationship between the concentrations and peak areas in (0.102 6~0.513 0) μg, and the average recovery was 98.94% (RSD = 2.05%). **Conclusion:** This procedure is highly sensitive, and easy to be performed, which can be used in the quantitative determination of paeoniflorin in Tongren Niu Huang Qingxin Tablet.

[Key words] Tongren Niu Huang Qingxin Tablet; paeoniflorin; quantitative determination

同仁牛黄清心丸来源于宋《太平惠民合剂局方》, 现收载于《中药成方制剂》十七册<sup>[1]</sup>, 具有益气养血, 镇静安神, 化痰熄风功能。该处方目前仍为传

统的原粉蜜丸剂, 服用不便, 内在质量不易控制, 难以与国际化标准接轨, 因而我们通过工艺研究将其制成了新型片剂, 并通过薄层色谱、高效液相色谱等方法进行定性定量, 以加强对其新制剂的质量控制。本文介绍采用高效液相色谱法测定同仁牛黄清心片中芍药苷的定量方法研究。

### 1 仪器和试剂

1.1 仪器 Waters1515 高效液相色谱仪; Waters2487

[收稿日期] 2008-10-27

[基金项目] 北京市科委重大攻关课题(h050230130910)

[通讯作者] \* 李向日, Tel: (010) 84738616; E-mail: lixiangri@sina.com

紫外检测器; Mellennium<sup>32</sup> 色谱工作站; 超声波(昆明市超声波仪器有限公司, KQ-250E)。

**1.2 试药** 甲醇为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。芍药苷为中国药品生物制品检定所提供(批号: 110736-200424 供含量测定用)。使用前置五氧化二磷干燥器中干燥至恒重。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Symmetry Shield<sup>TM</sup> RP<sub>18</sub> (3.9 × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾 (25: 75); 检测波长: 230 nm; 流速: 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取在五氧化二磷干燥器中干燥至恒重的芍药苷对照品适量, 加甲醇溶解制成每 1 mL 含芍药苷 0.285 mg 的溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 片, 除去包衣, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 的具塞锥形瓶中, 精密加入 30% 乙醇 25 mL, 称重, 超声(功率 250 W, 频率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷后, 用 30% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得<sup>[2]</sup>。

**2.4 阴性供试品溶液的制备** 取处方中除白芍外的全部药味, 按成品工艺及供试品溶液的制备方法制备白芍阴性供试品溶液。

**2.5 线性范围的考察** 分别精密吸取对照品溶液 (0.285 mg·mL<sup>-1</sup>) 0.9, 1.8, 2.4, 3.0, 3.6, 4.5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 滤过。再分别精密吸取上述溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标进行回归, 得标准曲线  $Y = 1.61 \times 10^6 X - 1.7 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$ 。以上结果表明, 样品进样量在 0.102 6~ 0.513 0 μg 范围内, 芍药苷峰面积与进样量呈现良好的线性关系。

**2.6 空白干扰试验** 本处方为片剂, 因而依法制备了缺白芍的阴性对照样品。按前法分别测定, 结果表明, 芍药苷对照品与同仁牛黄清心片中芍药苷的保留时间基本一致, 阴性供试品溶液在芍药苷色谱峰位置处无相应的峰出现, 说明产品中芍药苷来自于同仁牛黄清心片。所得芍药苷对照品、供试样品及阴性供试品色谱图, 见图 1。

**2.7 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 10 μL 同法连续测定 6 次, 测得峰面积积分值 RSD 为 1.02% (n = 6)。

**2.8 稳定性试验考察** 精密吸取同一供试品溶液

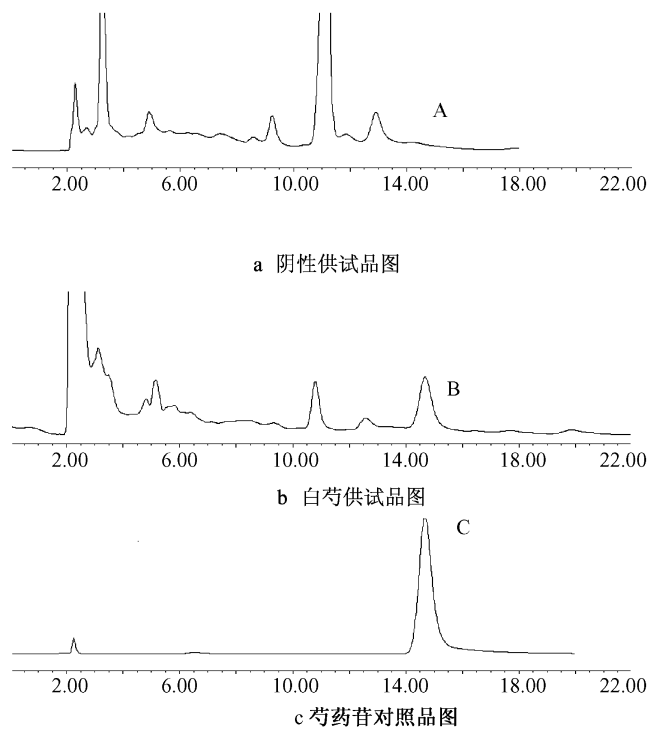


图 1 同仁牛黄清心片 HPLC 图

(批号: 20041023) 10 μL 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 按上述色谱条件分别测定峰面积, 结果 RSD 为 2.30%, 表明, 供试品溶液制备后 12 h 内测定结果稳定。

**2.9 重复性试验** 取同一样品 6 份 (批号: 20041023), 分别精密称定, 按上述色谱条件和供试品溶液制备方法测定, 计算含量, RSD 为 2.08%。结果表明, 重复性较好。

**2.10 加样回收试验** 取本品已知准确含量的样品 (批号: 20041023) 0.3 g, 精密称定 6 份, 分别置 100 mL 具塞锥形瓶中。分别精密加入一定量的芍药苷对照品, 按上述色谱条件和供试品溶液制备方法测定, 测得平均回收率为 98.94%, RSD 为 2.05% (n = 6)。结果见表 1。

表 1 芍药苷回收率试验测定结果 (n = 6)

编号	样品重 (g)	样品中含芍药苷量 (μg)	对照品加入量 (μg)	实测总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.282 0	428.64	510	932.1	98.71		
2	0.288 7	438.82	510	935.2	97.34		
3	0.285 2	433.50	510	952.7	101.80	98.94	2.05
4	0.289 3	439.74	510	947.0	99.47		
5	0.287 7	437.30	510	948.2	100.18		
6	0.270 4	411.01	510	901.2	96.12		

上述实验结果表明, 该含量测定方法, 稳定, 重复性好, 且回收率在 95% 以上, 可作为样品中芍药苷

的含量测定方法。

**2.11** 6批同仁牛黄清心片含量测定 按前述方法制备供试品溶液并进行测定6批同仁牛黄清心片中芍药苷的含量,结果芍药苷的含量分别为0.76, 0.75, 0.73, 0.61, 0.70, 0.64 mg/片。

### 3 小结和讨论

同仁牛黄清心丸的适应症相当于现代医学急性脑血管病,中风先兆及后遗症,高血压,神经衰弱,健忘等。全方由27味药组成,成分复杂。白芍在方中作为臣药起到补血养血的作用。因此在同仁牛黄清心片的质量控制中,我们选择芍药苷进行定量测定。考虑到芍药苷极性较大,同时参考文献记载我们采用30%乙醇超声提取,对其提取时间进行了考察,分别超声20, 30, 40, 50 min,并测定峰面积,结果表明

超声30 min可提取完全。

根据6批样品测定结果,可将含量限度定为每片含芍药苷不得少于0.5 mg,但含量限度的制定还需要多批次的测定结果。本方法具有简单、快速、准确、稳定且重复性好的特点,可以作为新型同仁牛黄清心片的质量控制手段之一。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药品标准中药成方制剂第十七册[S]. 1998: 81.
- [2] 徐晓明, 徐大勇, 邢俊波. 高效液相色谱法测定妇康宁颗粒中芍药苷的含量[J]. 光明中医, 2008, 23(2): 451-452.