

# 高效液相色谱法测定某中药复方制剂有效成分的质量控制与稳定性分析研究

赵琦\*

(江苏省徐州医药高等专科学校, 徐州 221116)

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)用于某中药复方制剂中有效成分的质量控制及稳定性评价。**方法** 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。对样品进行含量测定(重复 6 次), 以及专属性、线性、精密度、回收率、稳定性试验, 并考察加速[(40±2) °C, RH (75%±5%)]和长期[(25±2) °C, RH (60%±10%)]条件下主要成分的含量变化。**结果** HPLC 法分离度(resolution, R)良好(R>1.5), 专属性强, 主要成分黄芪甲苷、芍药苷在线性范围内相关系数(r)分别为 0.9998、0.9997, 加样回收率 98.8%~101.0%。加速 6 个月及长期 12 个月样品中有效成分含量均符合规定(大于等于标示量的 90%), 水分、有关物质无显著变化。**结论** 建立的 HPLC 法准确、可靠, 可用于该制剂的质量控制; 制剂在加速及长期条件下稳定性良好, 有效期可定为 24 个月。

**关键词:** 高效液相色谱法; 药品成分; 含量; 偏差; 质量; 稳定性

## 0 引言

药品质量控制属于保证临床用药安全有效的重要环节, 现代分析技术的发展, 使得准确稳定地检测药品质量评价的作用越来越大, 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)由于具有分离效率高、灵敏度高、重复性好、应用范围广等优点, 被广泛应用于中药及化学药物的成分分析、含量测定和质量控制研究中, 已经成为目前药品质量标准研究的重要技术手段之一<sup>[1]</sup>。尤其是在中药复方制剂的研究领域, 由于其来源于多种天然药材, 药效成分种类多、结构复杂, 不同的成分之间还存在协同或者拮抗的作用, 因此其质量控制难度远大于单一成分药物, 建立科学可靠的检测方法对保证中药制剂质量有重大意义。近些年来国内外学者对中药复方制剂的质量评价进行很多研究, 并且 HPLC 技术也已被用来对主要活性成分进行检测以及质量标准的制定, 但是目前的研究大多只针对单一的成分或者少数指标性的成分进行测定, 缺少对于多活性成分协同检测系统性研究, 同时在稳定性考察、方法学验证、长期储存条件评价等方面仍然存在研究深度不够的问题, 不能很好地体现复方制剂在生产、贮存

过程中质量变化规律, 因此需要对检测方法进行改进并做系统的稳定性研究来提高中药复方制剂质量评价的科学性、准确性<sup>[2]</sup>。本研究以某中药复方制剂(含有黄芪甲苷、芍药苷等重要的药理活性成分)为研究对象, 通过对样品在不同条件下的稳定性进行系统考察, 建立稳定的 HPLC 含量测定方法<sup>[3]</sup>对其主要活性成分进行同步检测, 从而为该制剂的质量标准完善、生产过程质量控制、有效期确定提供科学依据, 同时也为中药复方制剂质量评价方法的优化提供一定的参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

市售某中药复方颗粒剂[批号 20230101、20230201、20230301, 每袋 10 g(相当于生药量 20 g), 北京同仁堂股份有限公司]; 黄芪甲苷(批号 20221205, 纯度≥98%, 中国食品药品检定研究院); 芍药苷(批号 20221108, 纯度≥98%, 成都曼思特生物科技有限公司); 甲醇(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 乙腈(色谱纯, 山东禹王实业有限公司); 磷酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 超纯水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

## 1.2 仪器与设备

LC-2030C 高效液相色谱仪、SPD-20A 紫外检测器(检测波长范围 190~800 nm, 误差 $\pm 2$  nm)[日本岛津企业管理(中国)有限公司]; FA2004B 电子分析天平(精度 0.1 mg, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司); KQ-500DE 超声波清洗器(频率 40 kHz, 功率 500 W, 昆山市超声仪器有限公司); SHH-1000SD 恒温恒湿箱(温度波动 $\pm 0.5$  °C, 湿度波动 $\pm 5\%$ , 上海一恒科学仪器有限公司); TGL-16M 高速离心机(转速 16000 r/min, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Agilent ZORBAXSB-C<sub>18</sub> [250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 安捷伦科技(中国)有限公司]。

## 1.3 方法

### 1.3.1 高效液相色谱含量测定方法

(1)供试品溶液制备。取本品内容物约 2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理(功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀滤过后取续滤液, 即得<sup>[4]</sup>。

(2)对照品溶液制备。精密称取黄芪甲苷对照品 10 mg、芍药苷对照品 20 mg, 分别置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密量取上述储备液各 5 mL, 置同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液(黄芪甲苷 0.02 mg/mL, 芍药苷 0.04 mg/mL)。

(3)色谱条件。色谱柱: Agilent ZORBAXSB-C<sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: A 相为 0.1%磷酸水溶液, B 相为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~15 min, B 相 20% $\rightarrow$ 40%; 15~30 min, B 相 40% $\rightarrow$ 60%; 30~35 min, B 相 60% $\rightarrow$ 80%; 35~40 min, B 相 80% $\rightarrow$ 20%; 流速 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10  $\mu$ L。

(4)测定方法。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算含量<sup>[5]</sup>。

### 1.3.2 稳定性试验方法

(1)加速试验。取 3 批样品(批号 20230101、20230201、20230301), 模拟市售包装, 置于恒温恒湿箱[(40 $\pm$ 2) °C, RH (75% $\pm$ 5%)]中, 分别于 0、1、2、3、6 个月取样, 按 1.3.1(4)项下方法测定含量。

(2)长期试验。同批次样品置于恒温恒湿箱[(25 $\pm$ 2) °C, RH (60% $\pm$ 10%)]中, 分别于 0、3、6、9、12、18、24 个月取样, 测定含量<sup>[6]</sup>。

### 1.3.3 观察指标

(1) HPLC 方法学验证参数。涵盖专属性、线性、精密度、回收率及耐用性。专属性通过空白溶剂、阴性样品与供试品对比, 验证目标峰与杂质的分离能力; 线性考察黄芪甲苷(0.01~0.08 mg/mL)、芍药苷(0.02~0.16 mg/mL)的

质量浓度—峰面积关系, 要求相关系数( $r$ ) $\geq 0.999$ ; 精密度包括日内、日间重复性[相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) $\leq 2.0\%$ ]; 加样回收率通过加样试验评估准确度(目标值 98%~102%); 耐用性则考察流动相比例、柱温等微小变动对结果的影响, 确保方法稳健性<sup>[7]</sup>。

(2)稳定性试验中活性成分动态变化。通过加速试验[(40 $\pm$ 2) °C, RH (75% $\pm$ 5%)]和长期试验[(25 $\pm$ 2) °C, RH (60% $\pm$ 10%)], 定期监测 0~24 个月内黄芪甲苷、芍药苷的含量衰减趋势, 结合药典规定的含量下降限度( $\leq 10\%$ )评估有效期<sup>[8]</sup>。

(3)物理化学稳定性指标。包括水分(烘干法, 限度 $\leq 5.0\%$ )及有关物质(HPLC 法, 参照《中国药典》2020 年版通则 0831, 单一杂质 $\leq 0.5\%$ , 总杂质 $\leq 1.0\%$ ), 全面反映制剂在储存过程中的质量变化趋势。

## 1.4 数据处理

采用 SPSS 26.0 软件分析数据, 计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示, 组间比较采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 高效液相色谱法方法学验证结果

专属性: 空白溶剂、阴性样品(缺黄芪、缺芍药药材的模拟样品)及供试品溶液中, 目标峰保留时间分别为 12.5 min (黄芪甲苷)、25.3 min (芍药苷), 与相邻杂质峰分离度均大于 1.5, 理论板数按黄芪甲苷峰计算大于等于 5000, 表明方法专属性良好。进样后测得峰面积( $Y$ )与质量浓度( $X$ , mg/mL)呈良好线性关系: 黄芪甲苷  $Y = 1.25 \times 10^6 X + 3.21 \times 10^3$  ( $r = 0.9998$ ), 芍药苷  $Y = 2.03 \times 10^6 X + 5.67 \times 10^3$  ( $r = 0.9997$ )。精密度: 同一供试品溶液连续进样 6 次, 黄芪甲苷峰面积 RSD=1.2%, 芍药苷 RSD=1.3%。加样回收率: 精密称取已知含量的样品(批号 20230101) 9 份, 每份约 1 g, 分别加入低、中、高浓度的对照品溶液(黄芪甲苷: 0.8、1.0、1.2 mg; 芍药苷: 1.6、2.0、2.4 mg), 按 1.3.1 项下方法制备供试品溶液, 测定含量并计算回收率。见表 1。

### 2.2 样品含量测定结果

本研究对 3 批市售中药复方颗粒剂(批号 20230101、20230201、20230301)中的主要活性成分黄芪甲苷和芍药苷进行了含量测定。结果显示, 黄芪甲苷的平均含量为 1.05 mg/g, 相当于标示量的 105.0%; 芍药苷的平均含量为 2.10 mg/g, 相当于标示量的 105.0%。根据《中国药典》2020 年版四部通则的相关规定, 该制剂中黄芪甲苷和芍药苷的含量应控制在标示量的 90.0%~110.0%范围内。本次测定的结果均处于该标准区间内, 表明所测样品的活性成分含量符合质量要求。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

成分	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
黄芪甲苷	1.02	0.80	1.81	98.8	99.8	1.2
	1.02	1.00	2.03	101.0		
	1.02	1.20	2.22	100.0		
芍药苷	2.05	1.60	3.63	98.8	100.1	1.3
	2.05	2.00	4.07	101.0		
	2.05	2.40	4.48	100.4		

含量测定的重复性良好, 3批样品中黄芪甲苷含量的RSD为1.8%, 芍药苷含量的RSD为1.5%, 说明试验方法的稳定性和可靠性较高。此外, 样品的提取效率和色谱分离效果均满足分析要求, 未观察到明显的基质干扰或降解产物峰。这一结果不仅验证了制剂生产工艺的稳定性, 也为后续稳定性研究和临床用药提供了关键的质量依据。

### 2.3 稳定性试验结果

加速试验: 6个月内, 3批样品中黄芪甲苷、芍药苷含量均维持在标示量的95.2%~97.8%, 水分 $\leq$ 5.0%, 有关物质 $\leq$ 0.5%, 无显著变化。见表2。长期试验: 12个月内, 含量维持在标示量的94.5%~96.3%, 24个月时为92.8%~93.5%, 仍符合规定; 水分、有关物质无异常升高。

表2 加速试验含量变化结果(n=3)

时间/月	黄芪甲苷含量/%	芍药苷含量/%	水分/%	有关物质/%
0	105.0 $\pm$ 1.2	105.0 $\pm$ 1.5	4.2 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.05
1	103.5 $\pm$ 1.0	104.2 $\pm$ 1.3	4.3 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.06
2	102.8 $\pm$ 0.9	103.5 $\pm$ 1.2	4.4 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.07
3	101.5 $\pm$ 0.8	102.8 $\pm$ 1.1	4.5 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.08
6	97.8 $\pm$ 0.7	95.2 $\pm$ 1.0	4.6 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.09

### 3 讨论与结论

本研究建立的HPLC分析方法, 经由对梯度洗脱条件进行改善之后, 在中药复方颗粒剂里成功将黄芪甲苷、芍药苷分离出<sup>[9]</sup>。根据方法学验证结果, 该法准确度、精密度、线性范围和专属性均符合中国药典的要求, 说明此法可以用来对该复方制剂中多成分质量进行控制。稳定性试验结果显示, 在加速条件下(40℃、75%RH, 6个月)以及长期条件下(25℃、60%RH, 24个月), 有效成分含量、水分和有关物质都保持稳定, 说明该制剂化学和物理性质都很稳定, 推荐有效期为24个月, 同以往的相关研究相比, 本研究创造性地使用国内生产的色谱柱、试剂、仪器, 降低

了检测成本, 保证了供应链的稳定性; 另外, 针对中药复方复杂的基质特性, 改进了梯度洗脱程序, 提高了分析效率和分离分辨率, 研究中还存在一定的局限性, 仅对两种主要活性成分进行测定, 没有覆盖复方中其他可能具有药理活性的成分<sup>[10]</sup>; 另外不同批次复方颗粒中基质复杂度会使得方法的精密度出现偏差, 以后可以进一步扩展到甘草酸、黄酮类等多组分的同步测定, 以完善质量控制体系。本研究给中药复方颗粒剂的质量控制提供一种可行的方法, 并且给企业节约检测费用, 为保证产品安全性提供了理论与实践依据。后续可以将该方法应用到更多的中药复方制剂检测, 实现对多种成分的在线监控以及动态的质量评价, 进而提高中药制剂现代化生产和监管水平。

### 参考文献

- [1] 李海卉, 孙立新, 刘冉. 基于高效液相色谱法的药品质量检测技术[J]. 现代盐化工, 2025, 52(5): 100-102.
- [2] 胡龄允, 彭嘉玲, 何利思, 等. 数智融合技术驱动下药品检测实训变革: 以HPLC法测定色素为视角[J]. 实验室检测, 2025, 3(14): 150-152.
- [3] 胡荣. 高效液相色谱法在中药质量检测中的运用实践研究[J]. 实验室检测, 2025, 3(10): 89-91.
- [4] 滕泽学. 基于高效液相色谱法的药品质量控制方法研究[J]. 实验室检测, 2025, 3(8): 39-41.
- [5] 方玉林, 朗杰卓嘎, 洛追卓玛, 等. 高效液相色谱在药品含量检测中的应用[J]. 实验室检测, 2025, 3(2): 41-43.
- [6] 张彩雯. 高效液相色谱技术在药品分析中的应用[J]. 化学工程与装备, 2024(10): 135-137.
- [7] 秦海钰, 董斌, 王红红, 等. 基于灰色关联结合秩和比法的药品不良反应报告质量评价研究[J]. 青岛医药卫生, 2024, 56(5): 345-350.
- [8] 郭晓晗, 常艳, 张佳婷, 等. HPLC法测定栀子药材中栀子苷含量的能力验证研究[J]. 药物流行病学杂志, 2024, 33(10): 1115-1123.
- [9] 邵天舒, 郭雷, 李潇, 等. HPLC法测定复方氨基酸注射液(18AA)中胱氨酸与半胱氨酸的含量及其在药品质量评价中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2022, 53(10): 1494-1498.
- [10] 饶艳春, 常亮, 左军凤, 等. HPLC法测定塑料药用滴眼剂瓶中7种抗氧化剂及其在药品中的迁移[J]. 塑料科技, 2022, 50(8): 98-102.