

HPLC 测定苍苓止泻口服液中绿原酸含量

李翔, 刘皈阳*, 马建丽, 周亮, 黄欣欣

(解放军总医院第一附属医院药剂药理科, 北京 100048)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定苍苓止泻口服液中绿原酸的含量。方法采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈, 流动相为甲醇-0.5% 冰醋酸溶液 (20:80), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 327 nm, 室温。结果: 绿原酸浓度在 0.021 84~0.436 8 μg 与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 100.97%, RSD 2.10% (n=6)。结论: 该方法简便、快速、准确、可靠, 可用于苍苓止泻口服液中绿原酸的含量测定。

[关键词] 苍苓止泻口服液; 绿原酸; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0121-03

Determination of Chlorogenic Acid in Cangling Zhixie Oral Solution by HPLC

LI Xiang, LIU Gui-yang*, MA Jian-li, ZHOU Liang, HUANG Xin-xin

(Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of chlorogenic acid in Cangling Zhixie oral solution. **Method:** The Agilent Eclipse XDB-C₁₈ was used with the mobile phase consisted of methanol-0.5% acetic acid (20:80); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the detection wavelength was at 327 nm, and the column temperature was at room temperature. **Result:** A good linear correlation of chlorogenic acid was observed within the range of 0.021 84-0.436 8 μg. The average recovery was 100.97% with RSD 2.10% (n=6). **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and reliable. It can be used for the determination of chlorogenic acid in Cangling Zhixie oral solution.

[Key words] Cangling Zhixie oral solution; chlorogenic acid; HPLC; determination

苍苓止泻口服液是由苍术、茯苓、金银花、葛根、柴胡、黄芩等组成的棕红色液体, 具有清热除湿、运脾止泻的功效, 用于治疗湿热所致的小儿腹泻以及轮状病毒性及细菌性肠炎^[1]。方中金银花具有广谱的抗菌作用, 对金黄色葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌等具有显著的抑菌作用, 并影响抗体的免疫功能^[2]。金银花中的主要成分为绿原酸, 其被证明具有抗菌、抗病毒、抗氧化、免疫调节等多种作用^[3]。目前, 苍苓止泻口服液被收载于《新药转正标准》中, 其质量标准中只对黄芩苷进行含量测定, 对制剂中绿原酸含量的测定尚未见报道。为了更加全面的

保证药品的安全性和有效性, 本试验建立了高效液相色谱法测定绿原酸的含量, 方法简便、可靠, 重复性好, 精确度高, 可以为全面控制该制剂的质量提供参考和借鉴。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (包括四元泵, VWD 检测器, 自动进样器, ChemStation 化学工作站), Mettler AE240 型电子天平。绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0753-200111), 苍苓止泻口服液 (10 mL/支, 河南天方药业中药有限公司, 批号 120101, 120117, 120221), 甲醇为色谱纯, 冰醋酸为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-0.5% 冰醋酸溶液 (20:80), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 327

[收稿日期] 20120813(005)

[第一作者] 李翔, 博士, 主管药师, Tel: 010-66867401, E-mail: lxbj@hotmail.com

[通讯作者] * 刘皈阳, 副主任药师, E-mail: liuguiy@gmail.com

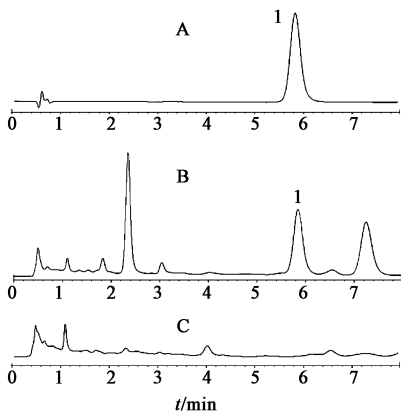
nm,柱温为室温。理论塔板数按绿原酸峰计算不低于 6 000。

2.2 对照品溶液制备 精密称取绿原酸对照品适量 10.92 mg,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得 218.4 mg·L⁻¹的对照品储备溶液。精密量取 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容,即得 21.84 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 精密量取本品 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液制备 制备不含金银花的阴性对照样品,并按 2.3 项下供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.5 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,按上述色谱条件进样测定。结果阴性对照溶液对绿原酸的测定无干扰,见图 1。



A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 阴性对照溶液;1. 绿原酸
图 1 苍苓止泻口服液 HPLC

2.6 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 1,2,5,10,15,20 μL,注入液相色谱仪。以绿原酸进样量 (g)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 3\ 173.61X + 0.569\ 2$ ($r = 0.999\ 9$, $n = 6$)。结果表明,绿原酸在 0.021 84 ~ 0.436 8 μg 与峰面积线性关系良好。

2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL,重复进样 6 次。结果绿原酸峰面积的 RSD 0.58% ($n = 6$),表明方法精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,24 h 进样。结果绿原酸峰面积的 RSD 2.31% ($n = 6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验 取同一样品 6 份,按溶液制备方法分别制备供试品溶液,各取 5 μL 进样测定绿原酸含量,结果平均含量为 394.4 mg·L⁻¹,RSD 1.91%

($n = 6$),表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量为 394.4 mg·L⁻¹的样品 6 份,分别精密加入 218.4 mg·L⁻¹绿原酸对照品储备溶液 0.9 mL,按溶液制备方法制备供试品溶液,测定绿原酸含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 绿原酸加样回收率试验 ($n = 6$)

取样量 /mL	样品含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.5	197.2	196.6	390.2	98.19		
0.5	197.2	196.6	399.6	102.97		
0.5	197.2	196.6	400.5	103.43		
0.5	197.2	196.6	391.5	98.85	100.97	2.10
0.5	197.2	196.6	396.4	101.34		
0.5	197.2	196.6	395.8	101.04		

2.11 样品含量测定 按溶液制备方法制备供试品溶液,依法测定样品中绿原酸的含量,结果批号为 120101,120117,120221 的 3 批样品中绿原酸的含量分别为 394.4,368.4,375.1 mg·L⁻¹,RSD 分别为 1.91%,2.35%,1.84% ($n = 3$)。

3 讨论

分别考察水、甲醇、乙醇等 3 种不同溶剂对供试品溶液制备效果的影响。甲醇和乙醇处理的样品溶液中,可以看到明显的絮状沉淀,而用水处理的样品仍为澄清溶液。另外,比较 3 种溶剂处理后样品溶液的色谱图,可以发现水稀释样品的色谱图中,杂质峰较多。甲醇和乙醇稀释后溶液的色谱图中,杂质峰较少,但与水稀释的色谱图相比,可以发现甲醇与水处理后的绿原酸色谱峰面积基本一致,乙醇稀释后样品的色谱图中绿原酸峰面积偏低,分析其原因可能为形成沉淀,导致溶液中绿原酸含量降低。

目前,高效液相色谱法测定绿原酸含量的方法多采用磷酸及磷酸盐溶液作为流动相^[4-8]。本试验采用 0.5% 冰醋酸溶液作为流动相,同样可以取得良好的分离效果和色谱峰型。同时,考察 0.5%,1.0%,2.0% 冰醋酸溶液对分离的影响,流动相中冰醋酸比例的增高对分离效果没有影响,故确定 0.5% 冰醋酸溶液为流动相。本方法操作简便、快速、准确,可以为评价和提高苍苓止泻口服液的质量提供参考和借鉴。

[参考文献]

[1] 欧燕芬,高锐.苍苓止泻口服液治疗婴幼儿轮状病毒性肠炎疗效观察[J].实用医学杂志,2006,22(4):475.

HPLC 测定维药金锁昆都尔片中木香含量

张丽*, 陈菊, 孙桂林

(新疆维吾尔自治区食品药品审评认证中心, 乌鲁木齐 830000)

[摘要] 目的: 建立维吾尔药金锁昆都尔片中木香含量测定的方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A AA12S05-1506WT A-312 (6.0 mm × 150 mm, S-5 μm, 12 nm); 流动相甲醇-水 (65:35), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 225 nm。结果: 木香烯内酯在 0.03 ~ 0.07 g·L⁻¹ 呈良好线性关系 ($r=0.9995$), 平均回收率为 99.31%, RSD 0.62%; 去氢木香内酯在 0.06 ~ 0.14 g·L⁻¹ 呈良好线性关系 ($r=1$), 平均回收率为 99.33%, RSD 0.70%。结论: 该法专属性强、简便、准确性高、重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 金锁昆都尔片; 木香烯内酯; 去氢木香内酯; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0123-03

Detemination of Costustootin Uighur Medicine Jinsuokunduer Tablet by HPLC

ZHANG Li, CHEN Ju, SUN Gui-lin

(Xinjiang Municipal Food and Drug Administration, Wulumuqi 830000, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a method for the determination of costustoot in uighur medicine JinSuoKunDuEr Tablets. **Method:** HPLC method was adopted in which the separation of costustoot was performed on YMC-Pack ODS-A AA12S05-1506WT A-312 (150 mm × 6.0I. D., S-5 μm, 12 nm) column; the mobile phase was composed of methanol-water (65:35), with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and detection wavelength at 225 nm. **Result:** Costunolide were linear in the range of 0.03-0.07 g·L⁻¹ ($r=0.9995$); the average recovery was 99.31% with RSD of 0.62%. Dehydrocostus lactone was linear in the range of 0.06-0.14 g·L⁻¹ ($r=1$), the average recovery was 99.33% with RSD of 0.69%. **Conclusion:** The method was simple, accurate and repeable, and it can be used for quality control of this preparation.

[Key words] Jin suo kun du er Tablet; costunolide; dehydrocostus lactone; HPLC

[收稿日期] 20120228(021)

[第一作者] *张丽, 工程师, 学士学位, 从事药学研究, Tel: 13565897085, E-mail: 923357864@qq.com

- [2] 白丽红, 邹宇. 金银花的药理分析与应用[J]. 中国现代药物应用, 2011, 5(4): 159.
- [3] 王丽萍, 郭栋, 王果, 等. 中药绿原酸的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 961.
- [4] 孙英英, 崔永霞, 刘伟. HPLC 对不同品种菊花中绿原酸含量的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 83.
- [5] 王佃荣, 陈洪喜, 尚强. 麻杏口服液中绿原酸含量测定方法的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 56.
- [6] 王玲玲, 王凌, 杨菲, 等. RP-HPLC 测定银黄颗粒中绿原酸和黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 124.
- [7] 夏莲, 陈卫卫. HPLC 测定清胰利胆颗粒中绿原酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 101.
- [8] 谢臻, 钟明玉, 曾海生. HPLC 测定桑白皮中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 100.

[责任编辑 顾雪竹]