

# HPLC 测定清热消炎宁胶囊中异秦皮啶与迷迭香酸含量

黎雄<sup>1\*</sup>, 杨柳<sup>1</sup>, 曾星<sup>1</sup>, 邓远辉<sup>1</sup>, 高智能<sup>2</sup>

(1. 广州中医药大学第二附属医院, 广州 510200; 2. 广东药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:建立同时测定消炎宁胶囊中异秦皮啶与迷迭香酸含量的高效液相色谱分析方法。方法:色谱柱 Waters XBridge C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1% 磷酸(21:79),等度洗脱;检测波长 340 nm;流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。结果:异秦皮啶在 0.32 ~ 3.2 μg,迷迭香酸在 0.256 6 ~ 2.566 μg 与峰面积呈良好的线性关系( $r = 0.999\ 8, 0.999\ 9$ );平均加样回收率分别为 97.3%, 98.9%, RSD 分别为 1.6%, 1.3%。结论:该法简便、重复性好、各成分分离良好,建立的方法可更有效地控制清热消炎宁胶囊的质量。

**[关键词]** 清热消炎宁胶囊;异秦皮啶;迷迭香酸;高效液相色谱法;含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0053-03

## Determination Content of Isofraxidin and Rosmarinic Acid in Qingre Xiaoyanning Capsules by HPLC

LI Xiong<sup>1\*</sup>, YANG Liu<sup>1</sup>, ZENG Xing<sup>1</sup>, DENG Yuan-hui<sup>1</sup>, GAO Zhi-neng<sup>2</sup>

(1. Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China;  
2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method for simultaneous determination of isofraxidin and rosmarinic acid in Qingre Xiaoyanning Capsules. **Method:** A HPLC method was used with a Waters XBridge C<sub>18</sub> column(4.60 mm × 250 mm, 5 μm) and acetonitrile-0.1% phosphoric acid (21:79) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was 340 nm. **Result:** The linear ranges of isofraxidin and rosmarinic acid were 0.32-3.2 μg( $r = 0.999\ 8$ ) and 0.256 6-2.566 μg( $r = 0.999\ 9$ ), respectively. The average recoveries ( $n = 6$ ) were 97.3% (RSD 1.6%) and 98.9% (RSD 1.3%), respectively. **Conclusion:** This HPLC method is simple, accurate and reliable, and can be used for the quality control of Qingre Xiaoyanning Capsules.

**[Key words]** Qingre Xiaoyanning Capsules; Isofraxidin; Rosmarinic acid; HPLC; Determination

清热消炎宁胶囊为中草药草珊瑚经提取加工而成的单味药制剂,具有清热解毒,消炎止痛,舒筋活络之功效,用于流行性感冒,咽喉炎,肺炎,菌痢,急性胃肠炎,阑尾炎,烧伤,疮疡脓肿,蜂窝织炎等疾病<sup>[1]</sup>。部颁标准中清热消炎宁胶囊质量控制只有异秦皮啶的薄层鉴别,而骆维康等只是对实验室采用

新工艺自制的清热消炎宁胶囊制剂进行了异秦皮啶的含量测定,其供试品溶液制备工艺较为繁琐<sup>[2]</sup>。本论文研究发现清热消炎宁胶囊中主要药效成分除异秦皮啶,还有一主要多酚羟基酚酸类成分-迷迭香酸,该成分抗氧化及清除自由基作用和抗炎、免疫调节、抗血栓生成、抗菌、抗病毒等生物活性<sup>[3]</sup>,与其制剂临床应用药效密切相关,因此应当作为清热消炎宁胶囊制剂中有效成分纳入质量控制指标体系,本文采用 HPLC 法同时测定清热消炎宁胶囊中异秦皮啶与迷迭香酸含量,并对提取方法、色谱条件进行了考察。

**[收稿日期]** 20100505(011)

**[通讯作者]** \*黎雄, Tel:020-39318778, E-mail: youren1994@yahoo.com.cn

## 1 仪器与试药

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2998 PDA 检测器, Empower 色谱工作站, Millipore 超纯水机(法国 Millipore 公司)。AL 104-IC 电子分析天平。对照品异秦皮啶、迷迭香酸均为本实验室自制,经 HPLC 检测,纯度大于 98%;乙腈为色谱纯,购于国药集团化学试剂有限公司;乙酸(色谱纯);水为超纯水。

清热消炎宁胶囊(广州敬修堂药业股份有限公司,批号 N12015, N08012, H01001, N10011, 规格: 0.5 g/粒)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Waters XBridge C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (21:79); 检测波长 340 nm; 柱温 40 °C; 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μL。

**2.2 混合对照品溶液的制备** 精密称取对照品异秦皮啶及迷迭香酸适量,加 70% 甲醇制成每 1 mL 各含 320, 256.6 μg 的溶液作为储备液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 粒(每粒 0.5 g),除去囊壳,倾出内容物,精密称定,研细,取 0.2 g,精密称定,加 70% MeOH 20 mL,回流提取 1 h,过滤,放冷至室温,滤液用 70% MeOH 定容至 25 mL 量瓶,摇匀,即得。

**2.4 系统适用性试验** 按上述色谱条件分别对对照品和供试品溶液进行分析,异秦皮啶与迷迭香酸分离度大于 1.5,理论塔板数均大于 10 000,同时用乙腈-0.1% 磷酸空白溶液进行分析,结果在对照品相应的保留时间未出现色谱峰,说明本法专属性较好,见图 1。

**2.5 标准曲线、检测限(LOD)和定量限(LOQ)** 取混合对照品溶液,分别进样 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按 2.1 项下进行 HPLC 分析。以对照品进样量(μg)为横坐标,相应峰面积为纵坐标,得到两指标成分的线性回归方程和线性范围。逐步稀释对照品溶液,按信噪比 3 和 10 分别计算各成分最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ)。结果见表 1。

表 1 标准曲线、检测限和定量限

化合物	线性范围	回归方程	r	检测限	定量限
	/μg			/ng	/ng
异秦皮啶	0.32 ~ 3.20	$Y = 2.77 \times 10^6 X - 1.15 \times 10^5$	0.999 8	0.5	1.6
迷迭香酸	0.257 ~ 2.567	$Y = 2.07 \times 10^6 X - 1.0 \times 10^5$	0.999 9	0.8	2.8

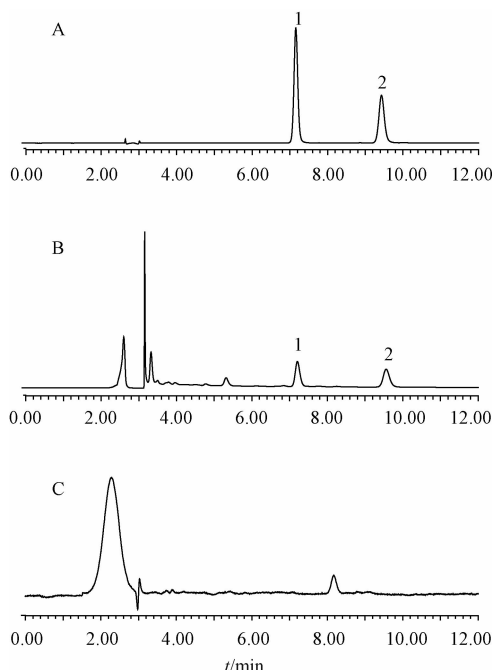


图 1 对照品(A)、供试品(B)及乙腈-0.1%磷酸空白样品(C) HPLC 色谱图

1. 异秦皮啶; 2. 迷迭香酸

**2.6 精密性、重复性及稳定性** 精密性: 吸取混合对照品溶液 2 μL, 连续进样 6 次, 测定异秦皮啶、迷迭香酸峰面积 RSD 值均为 1.1%, 表明仪器精密性良好。

重复性: 取同一样品 5 份(批次 N12015), 每份称取 0.2 g, 按 2.3 项下平行制备供试品溶液, 进样测定, 异秦皮啶、迷迭香酸含量的 RSD 分别为 1.2%, 1.2%, 显示该法重复性良好。

稳定性: 取重复性项下同一供试品, 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样 6 次, 记录 24 h 内峰面积, 计算得异秦皮啶、迷迭香酸含量的 RSD 分别为 0.3%, 0.4%, 显示 24 h 内稳定性良好。

**2.7 加样回收率** 精密称取 6 份已知含量的同一批次(N12015)样品 0.1 g, 分别精密加入 2.2 项下的混合对照品溶液, 按 2.3 项下的方法制得所需溶液, 按 2.1 项下的色谱条件进样 20 μL 测定, 计算回收率。结果异秦皮啶、迷迭香酸的平均回收率(n = 6)分别为 97.3%, 98.9%; RSD 分别为 1.6%, 1.3%, 表明该方法具有较好回收率。结果见表 2。

**2.8 样品测定** 取本品 4 批, 分别按 2.3 项下的方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下进行 HPLC 分析, 测定各指标成分的峰面积并计算含量。结果见表 3。

表 2 回收率试验结果

化合物	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
异秦皮啶	0.344	0.32	0.653	96.5	97.3	1.6
	0.344	0.32	0.658	98.0		
	0.344	0.32	0.661	99.2		
	0.344	0.32	0.659	98.4		
	0.344	0.32	0.648	94.8		
	0.344	0.32	0.654	96.8		
迷迭香酸	0.445	0.513	0.959	100.0	98.9	1.3
	0.445	0.513	0.96	100.5		
	0.445	0.513	0.945	97.5		
	0.445	0.513	0.946	97.7		
	0.445	0.513	0.949	98.2		
	0.445	0.513	0.954	99.2		

表 3 清热消炎宁胶囊含量测定结果 (n = 3)

批号	异秦皮啶/(mg/粒)	RSD/%	迷迭香酸/(mg/粒)	RSD/%
N12015	1.77	0.4	2.33	1.7
N10011	1.39	2.0	2.36	2.8
N08012	1.10	1.5	1.79	1.9
H01001	1.46	1.8	1.49	1.4

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的优化** 异秦皮啶和迷迭香酸的最大紫外吸收波长分别为 340 nm, 330 nm, 故选择 340 nm 作为最大吸收波长。

考察了乙腈-0.1% 乙酸水、乙腈-0.1% 磷酸水 2 种流动相体系, 结果 0.1% 磷酸能明显改善迷迭香酸峰形, 大大提高柱效, 故选择在水相中加入 0.1% 磷酸。

比较了 40 ℃, 30 ℃ 2 种不同柱温, 结果 30 ℃ 柱温时迷迭香酸出峰时间明显延迟。

**3.2 样品处理方法的优化** 考察了不同溶剂及不同提取方法(超声处理、加热回流、浸渍)及溶剂用量倍数对 2 指标成分提取效率的影响。结果显示, 100 倍体积用量 70% 甲醇热回流提取 1 h, 提取效率最高, 重现性最好。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. WS3-B-1842-94.
- [2] 骆维康, 黄湘穗, 刘文坚. RP-HPLC 法测定清热消炎宁胶囊中异秦皮啶的含量[J]. 中药材, 2003, 26(6): 439.
- [3] 吴建章, 郁建平, 赵东亮. 迷迭香酸的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(3): 383.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 52 页)

### [参考文献]

- [1] Vivian K Ngan, Krista Bellman, Dulal Panda, et al. Novel actions of the antitumor drugs vinflunine and vinorelbine on microtubules[J]. Cancer Research, 2000, 60: 5045.
- [2] 祖元刚, 罗猛. 长春花生物碱成分及其药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 325.
- [3] Maruyama K, Ishidao, Takizawa, et al. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 40(1/2): 89.
- [4] 陈彤, 侯世祥. 复方硫酸长春新碱脂质体对乳腺癌荷瘤裸鼠的疗效与毒性[J]. 生物医学工程学杂志, 2009,

26(1): 127.

- [5] 宋力, 范文源. 优福定脂质体的处方与工艺优化[J]. 中国药房, 2007, 18(19): 1479.
- [6] Gauvin A, Pinguet F, Poujol S. High-performance liquid chromatographic determination of vinorelbine in human plasma and blood[J]. Chromatogram B, 2000, 748(2): 389.
- [7] 罗猛, 付玉杰. 反相高效液相色谱法快速测定长春花中 4 种生物碱[J]. 分析化学, 2005, 33(1): 87.
- [8] 刘硕, 作文英. 黄芩苷脂质体的包封率测定和体外释放度考察[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(5): 342.

[责任编辑 顾雪竹]