

## HPLC 法测定芎菊上清丸中绿原酸

王 杰, 魏 超, 吕曙华

(天津市药品检验所, 天津 300070)

芎菊上清丸由川芎、菊花、黄芩、栀子等 15 味药味组成, 具有清热解表、散风止痛的作用, 用于外感风邪引起的恶风身热、偏正头痛、鼻流清涕、牙疼喉痛。处方中菊花具有散风清热、平肝明目的作用, 与成品的功效相吻合。因此, 本实验采用高效液相色谱法, 建立了处方中绿原酸定量的方法, 为该制剂的质量控制提供了保证。

## 1 仪器与材料

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪。绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110753-200212)。芎菊上清丸由中新药业集团股份有限公司天津乐仁堂制药厂提供。甲醇、冰醋酸为分析纯, 水为纯化水。大孔树脂(G. D. X-104, 60~80 目)。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(20: 80: 1)<sup>[1]</sup>; 柱温: 40 °C; 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 327 nm。理论板数按绿原酸峰计应不低于 3 000。色谱图见图 1。

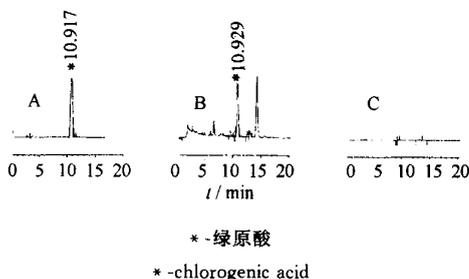


图 1 绿原酸对照品(A)、芎菊上清丸(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of chlorogenic acid (A), Xiongju Shangqing Pill (B), and negative sample (C)

## 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 取绿原酸对照品适量, 精密称定, 加 50% 乙醇制成 4 μg/mL 的溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品

约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 60 min, 放冷, 称定质量, 用 50% 乙醇补足质量, 滤过, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀<sup>[2,3]</sup>。精密吸取 10 mL, 加在 G. D. X-104 大孔树脂柱(10 cm × 0.8 cm)上, 用 20% 甲醇洗脱置 50 mL 量瓶中, 收集流出液约 49 mL, 用 20% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备: 按处方配比, 取除含绿原酸的各药, 按供试品溶液的制备方法处理, 制成阴性对照。

2.3 线性关系考察: 取绿原酸对照品适量, 精密称定, 加入 50% 乙醇制成 4.512 μg/mL 的溶液, 分别精密吸取 5、10、15、20、25、30 μL, 注入液相色谱仪, 测定各自峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程:  $Y = 1\,373.863\,9 X + 3\,571.2$ ,  $r = 0.999\,4$ , 线性范围为 0.022 56~0.135 36 μg。

2.4 精密度试验: 精密吸取绿原酸对照品溶液(4.512 μg/mL) 20 μL, 连续进样 5 次, 结果其峰面积的 RSD 为 0.39%。

2.5 重现性试验: 取同一批样品(批号 020567) 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 测得绿原酸的平均质量分数为 0.95 mg/g, RSD 为 1.37%。

2.6 稳定性试验: 取本品(批号 020567) 供试品溶液在 0、2、4、8、16、24 h 进样, 测峰面积值, 计算其 RSD 为 0.15%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 回收率试验: 取本品(批号 020566, 含绿原酸为 0.86 mg/g) 5 份, 各 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 0.045 12 mg/mL 绿原酸对照品溶液 25 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果平均回收率为 101.04%, RSD 为 2.24% ( $n = 5$ )

2.8 样品的测定: 取本品 10 批, 制备供试品溶液, 进样, 测定, 结果见表 1。

## 3 讨论

## 3.1 测定方法的确定

3.1.1 提取时间的考察: 采用 50% 乙醇超声处理

表1 芎藭上清丸中绿原酸的测定结果 (n=2)

Table 1 Chlorogenic acid in Xiongju Shangqing Pill (n=2)

批号	绿原酸/(mg·g <sup>-1</sup> )	批号	绿原酸/(mg·g <sup>-1</sup> )
020364	0.89	020263	0.99
020365	0.92	020668	1.00
021272	0.96	020962	1.04
020567	0.95	010660	0.90
010961	1.08	020566	0.86

方式。分别精密称取3份,精密加入50%乙醇25 mL,提取时间分别为40、60、80 min,结果表明,采取超声处理60 min的方法,样品中绿原酸的质量分数与80 min提取的相当。

3.1.2 柱分离考察:本品提取液(未经柱分离)直接进样,发现在120 min以上仍有杂质峰的出现,保留时间过长,故选用大孔树脂上柱处理。结果表明,采用大孔树脂上柱处理,既可除去样品中杂质,又可缩

短检测时间。实验中分别选择了不同体积分数的甲醇、同体积分数不同体积的甲醇试验,结果采用20%甲醇50 mL洗脱,达到良好的分离效果。

3.2 本实验在供试品溶液制备上分别选用硅胶、氧化铝、聚酰胺、大孔吸附树脂进行杂质处理。结果采用大孔吸附树脂处理后的样品,杂质峰明显减少,缩短分析时间,故选用大孔吸附树脂进行杂质处理。

#### References:

- [1] Cui L H, Lin X. Determination of chlorogenic acid in Fufangdaqinye Mixture by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21 (5): 371-372.
- [2] Wang Y, Huang Y, Li C. Determination of chlorogenic acid in Jinqiantong Liquid by HPLC [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2002, 14 (2): 63-64.
- [3] Wen P, Zhang Q B, Zhang S J. The determination of the content of chlorogenic acid in bine of *Lonicera japonica* Thunb. by HPLC [J]. *Drug Standards China* (中国药品标准), 2002, 3 (4): 47-48.

## RP-HPLC 法测定毛冬青滴丸中原儿茶醛

李苑新,袁旭江,朱盛山

(广东药学院中药开发研究所,广州 510240)

毛冬青为冬青属植物毛冬青 *Ilex pubescens* Hook. et Arn 的干燥根,具有活血通脉、消肿止痛、清热解毒、祛痰止咳的功效,广泛用于治疗冠心病、心绞痛、血栓闭塞性脉管炎或中心视网膜炎、喉头水肿、扁桃体炎、痢疾,外治烧、烫伤等<sup>[1]</sup>。毛冬青主要含黄酮类成分、酚类成分、香豆素类、二萜类成分等<sup>[2]</sup>。毛冬青滴丸是在《国家中成药标准汇编》[WS-11512(ZD-1512)-2002]毛冬青片的基础上研制而成。本实验采用高效液相色谱法测定毛冬青滴丸中原儿茶醛,为开发研究该剂型新药提供依据。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪系列(美国); Sartorius BP211D 电子分析天平(德国);原儿茶醛对照品(批号 0810-20004),由中国药品生物制品检定所提供;甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为高纯水;毛冬青滴丸(本所研制)。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Eclipse XDB-C<sub>8</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-1%冰乙酸水

溶液(3:22),体积流量:1.0 mL/min,检测波长:312 nm,柱温:30 ℃。

2.2 供试品溶液的制备:取毛冬青滴丸10粒(约0.35 g),精密称定,置25 mL量瓶中,加甲醇约15 mL,超声10 min使溶解,放冷,加甲醇至刻度,摇匀。用0.2 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备:准确称取经干燥(105 ℃)至恒重的原儿茶醛对照品适量,加甲醇溶解,制成11.7 μg/mL溶液,作为对照品溶液。

2.4 标准曲线的制备:在上述色谱条件下,用微量自动进样器分别吸取原儿茶醛对照品溶液1、1.5、3、6、12 μL依次进样,测定峰面积。以峰面积对进样量进行回归,得线性方程:Y=41.596 X-0.815, r=0.999 9。结果原儿茶醛在0.011 7~0.140 4 μg与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取上述对照品溶液5 μL,连续进样5次,原儿茶醛保留时间平均值为7.84 min, RSD为0.22%,原儿茶醛峰面积的RSD为0.51%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,于0、2、4、8、