

### 3 讨论

3.1 检测波长的选择:用二极管阵列检测器分别对 5 种成分进行全波长扫描得知,绿原酸、咖啡酸、芍药苷、木犀草苷和芦丁的最大吸收波长分别为 327、324、232、350、357 nm,为兼顾各组分的检测信号强度和检测灵敏度,选择 270 nm 作为检测波长。

3.2 流动相的选择:分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.4%磷酸、乙腈-0.1%磷酸溶剂系统,分离结果均不理想。采用甲醇-0.5%冰醋酸作流动相,进

行梯度洗脱可将 5 个组分完全分离,且基线稳定,峰形好,出峰快,缩短了分析周期,降低了成本。

3.3 超声溶剂及超声时间的考察:为了从抗感胶囊内容物中最大限度地提取出各种有效成分,实验对超声溶剂和超声时间进行了考察,结果表明,用 70%甲醇提取的有效成分数目多,峰面积较大;超声 30 min 即能提取完全。

参考文献:

- [1] 栾雨,曹云飞. RP-HPLC 法测定抗感胶囊中绿原酸的含量[J]. 江苏大学学报:医学版,2006,16(1):64-65.

## 苍耳丸的质量标准研究

林宏

(天津市儿童医院,天津 300074)

**摘要:**目的 建立苍耳丸的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对连翘、苍耳子、白芷进行定性鉴别,采用高效液相色谱法测定金银花中绿原酸。结果 薄层色谱法对检出连翘、苍耳子、白芷进行鉴别;HPLC 法定量绿原酸,绿原酸在 0.106 5~2.130 0  $\mu\text{g}$  与峰面积的线性良好( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率为 103.0%,RSD 为 0.5%( $n=6$ )。结论 该方法简便、准确、重复性好,可有效控制苍耳丸的质量。

**关键词:**苍耳丸;连翘;苍耳子;白芷;薄层色谱;绿原酸;高效液相色谱

**中图分类号:**R286.02 **文献标识码:**B **文章编号:**0253-2670(2010)01-0068-03

苍耳丸由菊花、金银花、连翘、苍耳子、白芷等 7 味中药组成,具有清热解毒,通鼻窍之功效,用于治疗鼻窦炎,疗效甚佳,临床应用多年。为了有效控制制剂质量,本实验采用薄层色谱法对方中连翘、苍耳子、白芷进行了鉴别,并采用高效液相色谱法对苍耳丸中的绿原酸进行了测定,方法简便易行,可以用于控制产品质量。

### 1 仪器与试剂

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津);LC solution 色谱工作站;双频恒温数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

绿原酸对照品(批号 110753-200413)、连翘苷对照品(批号 110821-200609)、苍耳子对照药材(批号 121168-200604)、白芷对照药材(批号 120945-200707)均由中国药品生物制品检定所提供;乙腈、磷酸为色谱纯,水为纯净水,其他试剂为化学纯;硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂);苍耳丸(本院自制,批号为 20080922、20081103、20090101)。

### 2 薄层色谱鉴别

2.1 白芷的 TLC 鉴别<sup>[1]</sup>:取本品(批号 20080922) 9 g,加硅藻土 4 g,研匀,加乙醚 40 mL,超声处理 2 次,每次 5 min,滤过,药渣备用,滤液挥干,残渣加醋酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取白芷对照药材 0.5 g,加乙醚 10 mL,同法制成对照药材溶液。再按处方配比,取除白芷外的其他药味,按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup>试验,吸取上述 3 种溶液各 2~4  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60)-乙醚(3:2)为展开剂,在 25 以下展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果在供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照溶液无此斑点,见图 1。

2.2 苍耳子的 TLC 鉴别:取 2.1 项下的药渣,挥干溶剂,加无水乙醇 50 mL,加热回流 40 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 3 mL 使溶解,静置,取上清液作为供试品溶液。另取苍耳子对照药材 1 g,加无水乙醇 20 mL,加热回流 40 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再按处

收稿日期:2009-03-23

作者简介:林宏(1969—),女,黑龙江省甘南县人,高级工程师,医学硕士,主要从事医院药学工作。

Tel: (022) 23519506 E-mail: eoylinvip@126.com

方配比,取除苍耳子外的其他药味,按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup>试验,吸取上述 3 种溶液各 6~8 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(8:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%磷钼酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰。结果在供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照溶液无此斑点,见图 2。

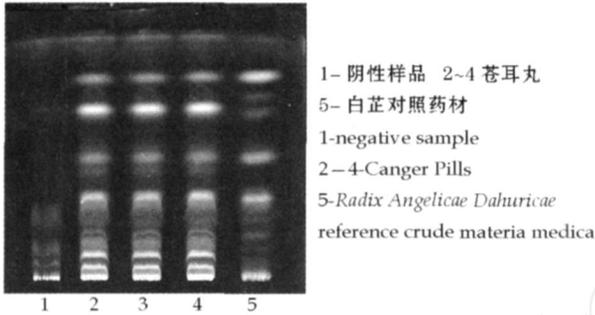


图 1 苍耳丸中白芷的 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Radix Angelicae Dahuricae* in Canger Pills

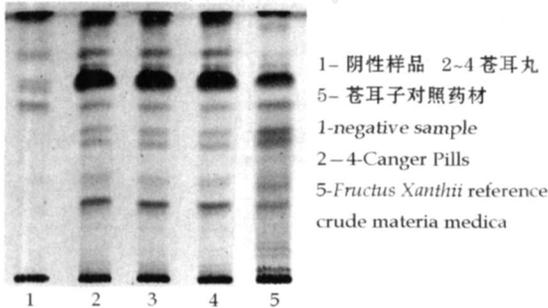


图 2 苍耳丸中苍耳子的 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC Chromatograms of *Fructus Xanthii* in Canger Pills

2.3 连翘的 TLC 鉴别:以 2.2 项下制备的供试品溶液为本试验的供试品溶液。取连翘苷对照品,加甲醇制成 0.5 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。再按处方配比,取除连翘外的其他药味,按供试品的溶液制备方法制得阴性对照溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup>试验,吸取供试品溶液及阴性对照溶液 4~6 μL,对照品溶液 2~4 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰。结果在供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照溶液无此斑点,见图 3。

### 3 绿原酸的 HPLC 法测定

3.1 色谱条件:Shim-pack VP-ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm);流动相为乙腈-0.4%磷酸(13

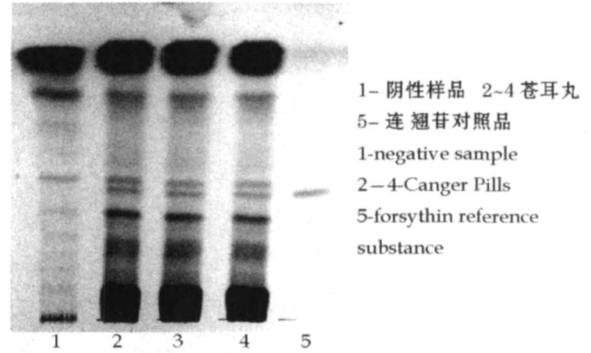


图 3 苍耳丸中连翘的 TLC 色谱图

Fig. 3 TLC Chromatograms of *Fructus Forsythiae* in Canger Pills

87);检测波长 327 nm;柱温 40℃;体积流量 1.0 mL/min;进样量 10 μL。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 1 000。

3.2 对照品溶液的制备:取绿原酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成 50 μg/mL 的溶液,即得。

3.3 供试品溶液的制备

3.3.1 提取溶剂的选择:取同一批样品(批号 20080922),剪碎,取 1 g,精密称定,分别精密加入 50%甲醇、甲醇各 50 mL,称定质量,超声处理 45 min,放冷,称定质量,用各自溶剂补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,测定绿原酸的质量浓度,计算得样品中绿原酸的质量分数分别为 2.620 2、2.246 6 mg/g。表明采用 50%甲醇溶剂提取样品中绿原酸的量高于甲醇溶剂提取的测定结果,故采用 50%甲醇为提取溶剂。

3.3.2 提取方式的确定:取同一批样品(批号 20080922),剪碎,取 1 g,精密称定,分别精密加入 50%甲醇 50 mL,称定质量,分别超声处理(功率 240 W,频率 45 kHz)和加热回流方式,提取时间均为 45 min,放冷,称定质量,用 50%甲醇补足各自减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,测定绿原酸的质量浓度,计算得样品中绿原酸的质量分数分别为 2.544 5、2.620 2 mg/g。结果表明采用超声提取后样品中绿原酸的量高于加热回流测定结果,故采用超声处理方式提取。

3.3.3 提取时间的考察:取同一批样品(批号 20080922),剪碎,取 1 g,精密称定,分别精密加入 50%甲醇 50 mL,称定质量,分别采用超声处理 30、45、60 min,放冷,称定质量,用 50%甲醇补足各自减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,测定绿原酸的质量浓度,计算得样品中绿原酸的质量分数分别为 2.446 0、2.620 2、2.664 6 mg/g。结果显示,提取

45 min 后样品中绿原酸的量与提取 60 min 后样品中绿原酸的量相当,认为提取 45 min 即可将样品中的绿原酸提取完全,故提取时间定为 45 min。

3.3.4 提取溶剂用量的考察:取同一批样品(批号 20080922),剪碎,取 1 g,精密称定,分别精密加入 50% 甲醇 50、100 mL,称定质量,超声处理 45 min,放冷,称定质量,用 50% 甲醇补足各自减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,测定绿原酸的质量浓度,计算得样品中绿原酸的质量分数分别为 2.620 2、2.581 0 mg/g。结果显示,提取溶剂为 50 mL 样品中绿原酸的量与提取溶剂为 100 mL 样品中绿原酸的量相当,认为提取溶剂为 50 mL 即可将样品中的绿原酸提取完全,故提取溶剂用量定为 50 mL。

3.3.5 供试品溶液的制备:取本品(批号 20080922)适量,剪碎,取 1g,精密称定,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率 240 W,频率 45 kHz)45 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

3.4 阴性对照溶液的制备:按处方配比,制备缺金银花与菊花的苍耳丸阴性样品,按供试品溶液的制备项制备方法制得阴性对照溶液。

3.5 专属性试验:分别吸取绿原酸对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,进样,测定,色谱图见图 4。结果表明,供试品溶液在对照品溶液绿原酸峰保留时间处有一色谱峰,而阴性对照溶液在该处未出现色谱峰,对测定无干扰。

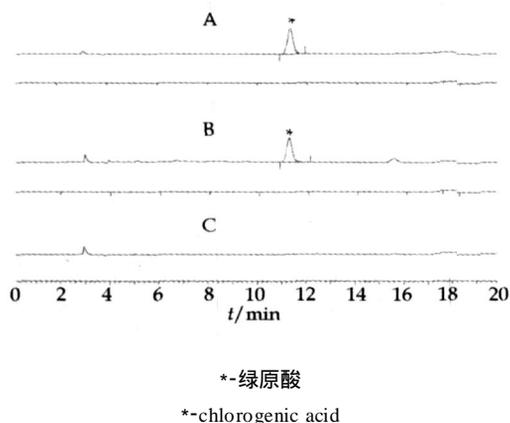


图4 绿原酸对照品(A)、苍耳丸(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig 4 HPLC Chromatograms of chlorogenic acid reference substance (A), Canger Pills (B), and negative sample (C)

3.6 标准曲线的制备:取绿原酸对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成浓度为 10.65、21.3、53.25、106.5、213.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液,分别精密吸取

10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,进样,分别测定各自峰面积。以对照品进样的质量为横坐标,峰面积值为纵坐标,求得回归方程  $Y = 2.6305 \times 10^6 X - 276.89$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明绿原酸在 106.5 ~ 2130.0 ng 与峰面积的线性良好。

3.7 精密度试验:取 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  绿原酸对照品溶液,连续进样 6 次,测定绿原酸峰面积,计算得其 RSD 为 0.40%。

3.8 重现性试验:取同一批号(批号 20080922)的样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定,结果样品中绿原酸平均质量分数为 2.602 9 mg/g, RSD 为 1.2%。

3.9 稳定性试验:取同一批号(批号 20080922)的样品适量,制备供试品溶液,分别在 0、2、4、8、24 h 进样测定,计算得各自绿原酸峰面积值的 RSD 为 0.17%。

3.10 加样回收率试验:取同一批号(批号 20080922)样品适量,剪碎,取 0.5 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入 26.82  $\mu\text{g}/\text{mL}$  绿原酸对照品溶液 50 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果平均回收率为 103.0%, RSD 为 0.5%。

3.11 样品的测定:取 3 批苍耳丸样品(批号为 20081103、20080922、20090101),制备供试品溶液,进样测定,每份样品测定 2 次,取其均值,结果 3 批样品中绿原酸的质量分数分别为 2.440、2.584、3.080 mg/g。

#### 4 讨论

在确定薄层色谱鉴别方法时,从样品制备、展开剂组成及比例的选择、点样量等方面,对几味药材的薄层色谱条件进行了优化,选择了最佳的试验条件。

在确定绿原酸测定方法时,对于供试品溶液中绿原酸的提取溶剂及用量、提取方式、提取时间进行了对比试验,选择了适合本品提取的最佳方案。选择检测波长时,在参考文献方法<sup>[3,4]</sup>的同时,将绿原酸对照品溶液用可见-紫外分光光度计进行扫描,结果显示,在 327 nm 波长处有最大吸收,因此选择此波长为检测波长。

#### 参考文献:

- [1] 陈木水,黄樱华,陈英文,等. 加味苍耳子丸的薄层色谱鉴别[J]. 海峡药学,2009,21(1):87.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005年.
- [3] 赵晓莉,陈晓燕,狄留庆,等. HPLC 法测定络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸和哈巴俄苷[J]. 中草药,2008,39(2):212-215.
- [4] 靳淑敏,杨维,王伟华,等. 多波长 RP-HPLC 法测定抗感宁合剂中绿原酸、葛根素和芍药苷[J]. 中成药,2009,31(1):106.