

杂质峰没有重叠,分离效果良好。

2.2 线性关系考察

分别精密量取上述对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪中,记录峰面积,以 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷进样量 (μg) 为横坐标,相应峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程: $Y = 3.5108 \times 10^6 X - 2424.5$, $r = 0.9999$, 线性范围: 0.01282~0.2564 μg 。

2.3 精密度试验

取同一浓度的对照品溶液重复进样 5 次,每次 10 μL ,测定 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷峰面积并计算其相对标准偏差,测定结果 RSD 为 0.24% ($n = 5$)。

2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 各进样 10 μL 分析,结果 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷峰面积的 RSD 为 0.21%。

2.5 重复性试验

同一批样品分别称取 5 份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液并进行测定,每次进样 10 μL ,结果 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的平均含量为 0.5675 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, RSD 为 0.25%。

2.6 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品 6 份,分别加入 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷对照品适量,按“2.1”方法制备供试品溶液并进行测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 Experiment for the rate of sample recovery

已知量	加入量	测定总量	回收率	平均回收率	RSD
μg	μg	μg	%	%	%
0.07037	0.06410	0.13453	100.09		
0.07037	0.06410	0.13337	98.28		
0.07037	0.06410	0.13426	99.67	99.44	0.72
0.07037	0.06410	0.13415	99.49		
0.07037	0.06410	0.13456	100.15		
0.07037	0.06410	0.13378	98.93		

2.7 样品含量测定

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算,即得。每批样品各测 2 次,结果见表 2。

表 2 样品含量测定

Tab 2 Determination for samples of different batch

批号	2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷含量 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$		
	1	2	平均值
050110	0.5670	0.5624	0.5647
050111	0.5679	0.5665	0.5672
050112	0.5676	0.5680	0.5678
050306	0.5542	0.5538	0.5540
050307	0.5517	0.5541	0.5529
050308	0.5550	0.5571	0.5561
050309	0.5540	0.5529	0.5535
050412	0.6153	0.6203	0.6178
050414	0.6255	0.6317	0.6286
050415	0.6203	0.6134	0.6186

3 讨论

3.1 二苯乙烯苷类成分在乙醇溶液中不稳定,实验中发现对照品溶液放置 2 d 后,含量会逐渐降低。因此,配制溶液时以稀乙醇溶液,并且在测定时的对照品溶液临用前配制,测定结果比较准确。

3.2 寿星补汁中制何首乌为方中君药,二苯乙烯苷是制何首乌的主要有效成分之一。本实验采用高效液相色谱法测定 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的含量,方法简便、准确、快速,测定条件下制剂中的其他组分对二苯乙烯苷的出峰基本无干扰,专属性较强,可用于该品的质量控制。

REFERENCES

[1] Ch. P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005 123

收稿日期: 2006-12-28

高效液相色谱法测定急支糖浆中原儿茶酸的含量

王勤¹, 张永玲², 侯铁军¹ (1 甘肃省张掖市药品检验所, 甘肃 张掖 734000; 2 甘肃省临夏州人民医院, 甘肃 临夏 731100)

摘要: 目的 建立急支糖浆中原儿茶酸的含量测定方法。方法 高效液相色谱法测定, Lichrosorb ODS C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 以乙腈-水-冰醋酸 (8: 100: 0.2) 为流动相, 检测波长为 259 nm。结果 原儿茶酸进样量在 0.15~0.73 μg 范围内具有良好的线性关系, $r = 0.9998$, 平均加样回收率为 98.86%, RSD = 0.70% ($n = 5$)。结论 所建立的定量方法准确、重复性好、专属性强, 可作为控制和评价本品质量的方法。

关键词: 高效液相色谱法; 急支糖浆; 原儿茶酸

作者简介: 王勤, 女, 副主任药师 Tel: (0936) 8292830 E-mail: wangqin690529@ yahoo.com.cn

Determination of Protocatechuic Acid in Jizhi Syrup by HPLC

WANG Q in¹, ZHANG Yong-lin², HOU Tie-jun¹ (1. Zhangye Institute for Drug Control, Zhangye 734000, China; 2. Linxia People's Hospital, Linxia 731100, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a HPLC method for the determination of protocatechuic acid in Jizhi Syrup. **METHODS**

HPLC was used with Lichrosorb C₁₈ (250 mm × 4. 6 mm, 5 μm) Column. Acetonitrile-water-acetic acid gradient (8: 100: 0. 2) was used as a mobile phase. The detection wavelength was 259 nm. **RESULTS** Protocatechuic acid showed a good linear relationship at a range of 0. 15~0. 73 μg, $r = 0. 999 8$, the average recovery was 98. 86% and RSD was 0. 70% ($n = 5$). **CONCLUSION** The method was accurate, reliable and specific. It could be used for the quality control and evaluation of Jizhi Syrup.

KEY WORDS RP-HPLC; Jizhi Syrup; protocatechuic acid

急支糖浆是以鱼腥草、金荞麦、四季青、麻黄等八味药材提取制成, 具有清热化痰、宣肺止咳的作用, 临床上主要用于治疗急性支气管炎, 感冒后咳嗽, 慢性支气管炎急性发作等呼吸系统疾病^[1], 疗效确切, 为《中国药典》2000年版和 2005年版一部收载品种。标准对柚皮苷进行含量控制, 对其中的原儿茶酸未进行测定。四季青作为君药, 其主要活性成分原儿茶酸具有明显抑制血小板聚集活性和抗菌活性^[2], 与急支糖浆主要药理作用相吻合, 因此有必要对原儿茶酸进行含量控制, 从而控制药品质量, 保证疗效。目前测定原儿茶酸含量的方法有一阶导数光谱法^[3], 薄层扫描法^[4], 毛细管电泳法^[5]和高效液相色谱法^[6-7]等。由于本制剂含药味多, 成分复杂, 互相干扰大, 通过试验, 笔者建立了专属性强、分离效果好的高效液相色谱法测定急支糖浆中原儿茶酸的含量, 结果满意, 可作为本制剂质量控制指标之一。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪: 包括 G1311A 四元泵, G1315A DAD 检测器, Agilent 1100 化学工作站; HITACHI 高效液相色谱仪: 包括日立 L-6000 泵, L-4200H 检测器, D-2500 数据处理机; 十万分之一电子天平 (METTLER-D2025 型); 超声波提取器 (SB2200-T 上海必能信超声有限公司); 原儿茶酸对照品 (中国生物制品检定所, 批号 809-200102); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其余试剂均为分析纯; 急支糖浆由太极集团涪陵制药厂生产, 阴性对照为取四季青外的七味药材按制备方法制备。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

Lichrosorb ODS C₁₈ 柱 (250 mm × 4. 6 mm, 5 μm); 检测波长: 259 nm; 流动相: 乙腈-水-冰醋酸 (8: 100: 0. 2); 流速: 1. 0 mL · min⁻¹; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL; 理论塔板数按原儿茶酸峰计算约为 6 500, 原儿茶酸与相邻色谱峰达到基线分离, 且阴性对照无干扰, 原儿茶酸峰的拖尾因子为 1. 08, 峰形基本对称; 用外标法定量。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定原儿茶酸对照品 9. 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 作为对

照品储备溶液; 精密吸取上述对照品储备溶液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 作为对照品溶液 (每 1 mL 含原儿茶酸 36. 4 μg)。

2.3 供试品溶液的制备

精密量取本品 3 mL, 加稀盐酸调节 pH 至 2, 置分液漏斗中, 用乙醚轻轻振摇提取 4 次 (20, 20, 15, 10 mL), 合并乙醚液, 用 5% 碳酸氢钠溶液提取 4 次, 每次 15 mL, 合并碳酸氢钠提取液, 用盐酸中和并调节 pH 至 2, 再用乙醚提取 4 次 (20, 20, 15, 10 mL), 合并乙醚液, 低温挥干乙醚, 残渣用流动相洗至 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 备用。

2.4 线性关系考察

精密吸取上述对照品储备溶液 2. 0, 4. 0, 6. 0, 8. 0, 10. 0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温。精密吸取上述五种溶液各 10 μL, 按上述色谱条件, 分别进样, 测定。以对照品进样量 (μg) 为横坐标, 以峰面积积分值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 1037404. 5X + 8701. 1$, $r = 0. 999 8$, 结果表明原儿茶酸对照品进样量在 0. 15~0. 73 μg 内具有良好的线性关系。

2.5 重复进样精密度试验

精密吸取对照品溶液, 在确定的色谱条件下连续进样 6 次, 原儿茶酸峰面积的相对标准偏差 RSD% 为 0. 42%, 精密度良好。

2.6 重复性试验和稳定性试验

取同一样品 (含量为 0. 536 mg · mL⁻¹) 6 份, 按“2. 3”项下的方法提取得到供试品溶液, 按“2. 9”项下测定法测定, 结果平均含量为 0. 536 mg · mL⁻¹, RSD 为 0. 45%; 取上述样品在 4, 8, 12, 24, 48 h 分别测定, 结果平均含量为 0. 534 mg · mL⁻¹, RSD 为 0. 52%, 表明被测样品溶液在 48 h 内基本稳定。

2.7 加样回收试验

取已知含量的样品 (含量为 0. 536 mg · mL⁻¹) 9 份, 各加入一定量的对照品溶液, 按“2. 3”项下的方法提取得到样品溶液, 按“2. 9”项下方法吸取 10 μL 进样测定, 每份重复 5 次, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 急支糖浆中原儿茶酸加样回收率实验结果 (n=5)

Tab 1 Results of protocatechuic acid in Jizhi Syrup's recovery test (n=5)

样品含量 /mg	加入对照 品量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.804	0.637	1.434	98.90		
0.804	0.637	1.431	98.43		
0.804	0.637	1.432	98.59		
0.804	0.819	1.613	98.78		
0.804	0.819	1.615	99.02	98.86	0.70
0.804	0.819	1.628	100.61		
0.804	1.001	1.790	98.50		
0.804	1.001	1.787	98.20		
0.804	1.001	1.792	98.70		

2.8 耐用性试验

分别采用 Lichrosorb C₁₈柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Zorbax SB-C₁₈柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)和 Hypersil ODS柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)进行分析,原儿茶酸的保留时间基本一致,样品分离情况良好。

2.9 样品测定

照供试品溶液制备法制备 3 批供试品溶液,分别取配制的对照品溶液、供试品溶液,经 0.45 μm 针筒过滤器过滤,精密吸取 10 μL 进样,以峰面积按外标法计算,被测样品中原儿茶酸的含量分别为 0.519、0.536、0.604 mg·mL⁻¹。

3 讨论

3.1 系统性试验中,从 DAD 检测器收集到的信息可知,原儿茶酸在 222、259、293 nm 处均有最大吸收,且在 259 nm 处的响应较大,故确定 259 nm 为检测波长。在确定色谱分离条件时,对甲醇-水-冰醋酸、乙腈-水-冰醋酸等不同流动相进行多次选择比较,确定本实验的流动相,原儿茶酸能够达到基线分离,峰形好,保留时间相对适中,分离度较好,与甲醇-水-冰醋酸液比较,柱压明显降低,其他成分无干扰。

3.2 本实验尝试在酸性条件下,以乙醚萃取,5% NaHCO₃返

提;在酸性条件下重新提取后,蒸干溶剂,加定量流动相溶解后进样的方法进行测定,可有效分离出原儿茶酸,减少了部分非测定物质的干扰。萃取次数的比较,选定萃取四次,结果表明四次可完全提出,减少提取次数,会增大测定误差。

3.3 本实验建立的含量测定方法专属性强,对于成分复杂,互相干扰大的中成药制剂分离效果好,可排除其他非测定物质的干扰,测定结果准确,相关性好,可作为该药的质量控制手段。

REFERENCES

[1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版,一部) [S]. 2005 541-542.

[2] YANG D.M., SU S.H.W., LIX, *et al*. Studies on bioactive constituents from the excreta of *Trogopterus Xanthipes Milne-Edwards* [J]. *Acta Pharm. Sin.*(药学学报), 1987, 22(10): 765-766.

[3] FENG T. J., SUN Y. B. Content determination of protocatechuic acid in Jizhi syrup by 1st derivative spectrum [J]. *Chin. Tradit. Pat. Med.*(中成药), 1992, 14(12): 11-12.

[4] ZHU Y. Q., YU R. G. Quantitative determination of protocatechuic aldehyde and protocatechuic acid by thin-layer chromatographic densitometry [J]. *Chin. J. Pharm. Anal.*(药物分析杂志), 1983, 3(5): 265-267.

[5] RU I. J. ZH., ZOU H. F., YUAN Y. SH., *et al*. Separation of water-soluble active principles of Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) Danshen, protocatechuic aldehyde and protocatechuic acid by HPLC [J]. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(中草药), 2000, 31(5): 337-339.

[6] ZHANG ZH. B., WU P. Y., QI Q., *et al*. Determination of protocatechuic aldehyde and protocatechuic acid in compound Sijijing tablets by HPLC [J]. *Chin. Tradit. Pat. Med.*(中成药), 2004, 26(9): 719-721.

[7] XU Y. H., CHAO R. B. Determination of protocatechuic acid in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. by HPLC [J]. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(中草药), 2004, 35(7): 817-818.

收稿日期: 2006-08-22

高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量

俞建平, 方翠芳, 唐登峰 (浙江省药品检验所, 杭州 310004)

摘要: 目的 建立肾康宁片的定量质控方法。方法 采用 HPLC-ELSD 法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量。结果 黄芪甲苷进样量在 1.036~7.77 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.6%, RSD=1.3% (n=11)。结论 该方法简便, 重复性好, 可用于控制肾康宁片的质量。

关键词: 高效液相色谱-蒸发光散射检测法; 肾康宁片; 黄芪甲苷; 含量测定

中图分类号: R 917.101; R 289 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)05-0408-03

作者简介: 俞建平, 男, 副主任中药师 Tel: (0571) 86459414 E-mail: WWW_YJP@163.com