

珍菊降压片中绿原酸与氢氯噻嗪的含量测定

宫钦红^{1*}, 阮健²

(1. 烟台市毓璜顶医院, 山东 烟台 264000; 2. 烟台市药品检验所, 山东 烟台 264000)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 法测定珍菊降压片中绿原酸与氢氯噻嗪的含量。方法: 采用反相高效液相色谱法, C₁₈ 色谱柱, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液 (20:80), 检测波长为 327 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 40 ℃。结果: 绿原酸进样量在 0.049 6~0.496 μg ($r=0.999\ 5$)、氢氯噻嗪进样量在 1.002~10.02 μg 范围内 ($r=0.999\ 8$) 线性关系良好, 该制剂中绿原酸 9 次测定的平均回收率为 101.0%, RSD 2.0%; 氢氯噻嗪 9 次测定平均回收率为 100.1%, RSD 1.4%。结论: 本方法简便、准确、可靠, 可用于珍菊降压片中绿原酸与氢氯噻嗪的含量测定。

[关键词] 绿原酸; 氢氯噻嗪; 高效液相色谱; 珍菊降压片

珍菊降压片为中西药物组成的复方制剂, 其主要成分为: 野菊花膏粉、珍珠层粉、盐酸可乐定、氢氯噻嗪、芦丁, 其质量标准已收载于部颁中药 20 册, 标准编号 WS₃-B-3925-98^[1]。该制剂在降低患者血压的同时, 还有改善全身各项临床症状、调节机体阴阳平衡和恢复自身的控压能力, 具有标本兼治的功效。本品具有疗效明确、服用剂量小、起效快、降压平稳、安全性好、长期服用无明显毒副作用和价格经济等优点, 是目前临床上常用的降压药物。君药野菊花具有调节人体免疫力等多种药理作用, 主要成分为绿原酸、蒙花苷等^[2-3], 原标准中只有理化鉴别, 无含量测定, 为了有效地控制该制剂质量, 本文采用 HPLC 法建立了中药代表成分野菊花膏粉(绿原酸)和西药成分氢氯噻嗪同时进行含量测定的方法, 以达到提高药品质量控制标准的目的, 经方法学考察, 本法灵敏准确, 重复性好、专属性强, 阴性对照无干扰, 可有效控制该产品的质量。

1 仪器与试药

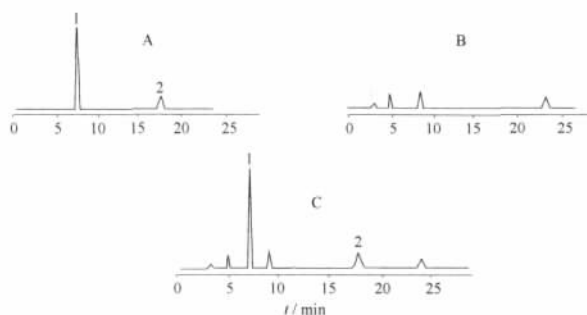
Shimadzu LC-10A 高效液相色谱仪; Lcsolution 色谱工作站; JA5003A 型电子分析天平(上海精天电子仪器有限公司)。UV757CRT 紫外分光光度计。

甲醇为色谱醇, 磷酸为分析纯, 水为重蒸馏水; 绿原酸(批号 110753-200212); 氢氯噻嗪(批号 10309-0001)。均由中国药品生物制品检定所提供。

珍菊降压片样品自制(批号 080901, 080902, 080903)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex ODS(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温为 40 ℃; 检测波长 327 nm; 流动相 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (20:80); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 10 μL。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 3 000。对照品及样品的色谱图见图 1。



A. 对照品 HPLC 谱; B. 阴性试验液 HPLC 谱; C. 珍菊降压片 HPLC 谱; 1. 绿原酸; 2. 氢氯噻嗪。

图1 珍菊降压片中绿原酸、氢氯噻嗪的含量测定 HPLC 图

2.2 对照品溶液的制备 精密称取以五氧化二磷为干燥剂真空干燥 24 h 的绿原酸对照品和经 105 ℃干燥至恒重的氢氯噻嗪对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 中含绿原酸 0.024 8 mg, 氢氯噻嗪 0.501 mg 的混合溶液, 即得。

2.3 供试品的制备 取供试样品 20 片(批号 080901), 研细, 精密称定 0.5 g, 置具塞烧瓶中, 精密量取 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min,

[稿件编号] 20100916003

[通信作者] * 宫钦红, 主要从事中药学研究, E-mail: jianghui-zhen@163.com

放至室温,称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过,作为供试品液。

2.4 空白样品的制备 另取缺野菊花和氢氯噻嗪的空白样品 20 片,按供试样品溶液的制备方法制得空白样品溶液。

2.5 线性关系考察 另配制每 1 mL 中含绿原酸 0.248 mg,氢氯噻嗪 5.01 mg 的标准品溶液;分别精密量取上述溶液 0.2,0.5,1.0,1.5,2.0 mL 适量,置 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,制成系列溶液;精密量取 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,测定峰面积,以峰面积(Y) 对进样量(μg) 进行线性回归计算,得线性方程:绿原酸 $Y = 780\,307.4X - 2\,853$, $r = 0.999\,5$,氢氯噻嗪 $Y = 102\,975.4X - 191$, $r = 0.999\,8$ 。结果表明,在此色谱条件下,绿原酸进样量在 0.049 6 ~ 0.496 μg 、氢氯噻嗪进样量在 1.002 ~ 10.02 μg 线性关系良好。

2.6 精密度试验 取绿原酸 24.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 氢氯噻嗪 0.501 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,重复进样 6 次,记录色谱图,测定峰面积。结果表明,绿原酸峰面积的 RSD 为 0.47%,氢氯噻嗪峰面积的 RSD 为 0.85%,表明色谱系统的精密度良好。

2.7 溶液稳定性 取本品(批号 080901) 同一份供

试品溶液及绿原酸 24.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、氢氯噻嗪 0.501 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,室温放置,分别于 0,2,4,8,12,24 h 进样 10 μL 进行测定。结果表明溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取本品,按以上方法平行制备 6 份供试品溶液,分别依法测定,计算得样品中绿原酸和氢氯噻嗪的含量,绿原酸的平均含量为 0.261 mg/片, RSD 0.45%; 氢氯噻嗪的平均含量为 102.3%, RSD 0.23%,结果表明本方法重复性良好。

2.9 回收率试验 取已知含量的同一批样品(批号 080901,绿原酸含量为 0.252 mg/片, 0.93 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 氢氯噻嗪含量为标示量的 103.2%, 0.516 mg/片, 1.91 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 共取 9 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别加入绿原酸对照品 0.116 2, 0.232 5, 0.348 7 mg(配成质量浓度为 0.232 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,分别准确加入 0.5,0.5,0.5,1.0,1.0,1.0,1.5,1.5,1.5 mL); 分别加入氢氯噻嗪对照品 0.239 3, 0.478 6,0.717 9 mg(配成质量浓度为 0.478 6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,分别准确加入 0.5,0.5,0.5,1.0,1.0,1.0,1.5,1.5,1.5 mL), 按以上方法制备各供试品溶液并测定样品中的含量,计算回收率,结果见表 1, 2。

表 1 绿原酸回收率

取样量/g	样品中绿原酸的量/mg	加入绿原酸量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.250 1	0.232 6	0.116 2	0.351 8	102.6	101.0	2.0
0.250 0	0.232 5	0.116 2	0.352 1	102.9		
0.249 3	0.233 8	0.116 2	0.353 4	102.9		
0.250 7	0.233 1	0.232 5	0.470 0	101.9		
0.250 3	0.232 8	0.232 5	0.459 2	97.37		
0.249 6	0.232 1	0.232 5	0.468 8	101.8		
0.249 9	0.232 4	0.347 8	0.582 3	100.6		
0.250 4	0.232 9	0.347 8	0.575 2	98.42		
0.250 0	0.232 5	0.347 8	0.583 1	100.8		

表 2 氢氯噻嗪回收率

取样量/g	样品中氢氯噻嗪的量/mg	加入氢氯噻嗪的量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.250 1	0.477 7	0.239 3	0.716 6	99.85	100.1	1.4
0.250 0	0.477 5	0.239 3	0.727 0	100.1		
0.249 3	0.476 2	0.239 3	0.715 5	100.0		
0.250 7	0.478 8	0.478 6	0.963 1	101.2		
0.250 3	0.478 1	0.478 6	0.941 4	96.82		
0.249 6	0.476 7	0.478 6	0.960 6	101.1		
0.249 9	0.477 3	0.717 9	1.203 1	101.1		
0.250 4	0.478 3	0.717 9	1.190 5	99.21		
0.250 0	0.477 5	0.717 9	1.204 0	101.2		

由表1,2可知本测定方法的回收率高,符合含量测定的要求。

2.10 样品测定 取样品3批,按以上方法制备供试品液和对照品液,进行测定,按外标法以峰面积进行计算。结果见表3。

表3 3批样品绿原酸、氢氯噻嗪含量测定数据 mg/片

批号	绿原酸	氢氯噻嗪
080901	0.252	0.516
080902	0.247	0.513
080903	0.244	0.507

3 结果与讨论

3.1 检测波长的选择 参考《中国药典》^[4] 2005年版一部确定样品检测波长327 nm,在此波长下的基线平稳,检测灵敏度高。

3.2 流动相的选择 参考文献资料^[4-5],考察了以下流动相条件:(1)乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87);(2)甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(15:85:1:0.3);(3)甲醇-0.1%磷酸溶液(20:80)。在上述色谱条件下,量

取供试品溶液10 μ L,注入液相色谱仪,结果表明,用流动相(3)测得的色谱图中绿原酸和氢氯噻嗪峰形对称,主峰的分离度、保留时间理想并无杂峰干扰,故选择甲醇-0.1%磷酸溶液(20:80)为本品实验含量测定的流动相。

3.3 提取方法的选择 本实验选择了以甲醇为溶剂,考察了提取方法及时间的条件,结果超声30 min提取完全,操作时间短,故供试品液采用上述制备方法。

本法灵敏准确,重复性好,专属性强,阴性对照无干扰,可有效控制该产品的质量。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第二十册[S]. 1998:232.
- [2] 王志东,梁容瑞,李宗芳. 中药野菊花的药理作用研究进展[J]. 医学综述,2009,15(6):906.
- [3] 吴红红,杨立伟,苏薇薇. 野菊花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2009,27(2):142.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2005:152,499.
- [5] 中华人民共和国国家药品监督管理局标准. 第五分册. 肺系—[S]. 2002:136.

HPLC determination of the contents Chlorogenic acid and Hydrochlorothiazide in Zhenjujiangyapian

GONG Qinrong^{1*}, RUAN Jian²

(1. Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai 264000, China; 2. Yantai Institute for Drug Control, Yantai 264000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of chlorogenic acid and hydrochlorothiazide in Zhenjujiangyapian. **Method:** The HPLC method was carried on C₁₈ column using methanol-0.1% phosphoric acid(20:80) as mobile phase, and the detection wavelength was 327 nm, the flow rate was 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹ and the temperature of column was 40 $^{\circ}$ C. **Result:** In the HPLC method, the calibration curve for chlorogenic acid, hydrochlorothiazide were linear in the range of 0.049 6-0.496 ($r=0.999\ 5$) and 1.002-10.02 μ g ($r=0.999\ 8$). The average recovery for chlorogenic acid, hydrochlorothiazide were 101.0% and 100.1%. RSD were 2.0% and 1.4% ($n=9$), respectively. **Conclusion:** The method is convenient, precise and reliable for determining the content of chlorogenic acid and hydrochlorothiazide in Zhenjujiangyapian.

[Key words] chlorogenic acid; hydrochlorothiazide; HPLC; Zhenju Jiangyapian

doi: 10.4268/cjcm20110423

[责任编辑 丁广治]