

# 高效液相色谱法测定柴银口服液中绿原酸含量

唐慧慧 蔡清宇

**[摘要]** 目的 建立柴银口服液中绿原酸的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法,以  $C_{18}$  色谱柱;以甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(15:85:1:0.3)为流动相 检测波长为 324 nm;流速:1.0 ml/min。结果 绿原酸在 23.4 ~ 304.2  $\mu\text{g}$  范围内线性关系良好,平均回收率为 99.84%,RSD 为 1.88%。结论 该法简便、准确,能更好的控制药品质量。

**[关键词]** 柴银口服液;绿原酸;高效液相色谱法

**[中图分类号]** R927.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1008-9926(2011)05-0442-02

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.05.021

## Determination of Chlorogenic Acid in *Chaiyin* Oral Liquid by High Performance Liquid Chromatography

TANG Hui-hui, CAI Qing-yu

Department of Pharmacy, Navy General Hospital, Beijing 100048, China

**[Abstract]** **Objective** To establish a quality control standard for chlorogenic acid in *Chaiyin* Oral Liquid.

**Methods** The high performance liquid chromatography method was used with octadecylsilane chemically bonded silica as the filler. The mobile phase consisted of methanol-water-acetic acid-triethylamine(15:85:1:0.3). The detective wavelength was set at 324 nm and the flow rate was 1.0 ml/min. **Results** Chlorogenic acid shows good linear relations between 23.4 and 304.2  $\mu\text{g}$ . The average recovery was 99.84% ( $n=5$ ) and RSD was 1.88%. **Conclusion** The methods is simple, sensitive, reliable and can be used for quality control of this drug.

**[Key words]** *Chaiyin* Oral Liquid; chlorogenic acid; high performance liquid chromatography

柴银口服液是一种抗感冒口服液,由柴胡、金银花、黄芩、葛根等十一味中药组成,具有清热解毒、利咽止咳之功效<sup>[1]</sup>。临床用于上呼吸道感染外感风热症。绿原酸具有很好的抗病原微生物作用,本文采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法对其中绿原酸进行含量测定,以控制成药质量,为建立药品完整的质量标准提供了依据。

### 1 仪器与试药

高效液相色谱仪色谱工作站,UV 检测器(均为日本岛津制作所);绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所),柴银口服液(规格:10 ml/支,鲁南厚普制药有限公司,批号见表 2),甲醇为色谱醇,水为娃哈哈纯净水,冰醋酸和三乙胺为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-Pack VP-ODS(4.6 mm

$\times 150$  mm,  $5 \mu\text{m}$ );流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(15:85:1:0.3),检测波长:324 nm;流速:1.0 ml/min。

**2.2 溶液的制备** (1)对照品溶液 取绿原酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成 23.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的溶液,即得。(2)供试品溶液 精密量取本品 2 ml 置 50 ml 棕色量瓶中,加水至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。(3)阴性溶液 按处方比例及生产制备方法,自制不含连翘、金银花和鱼腥草药材的阴性样品,按“供试品溶液”项下制备阴性对照溶液。

**2.3 专属性试验** 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液 3  $\mu\text{l}$  进样,结果表明阴性对照液在绿原酸的色谱峰处未发现吸收峰,表明无干扰,结果见图 1。

**2.4 线性关系的考察** 精密称取绿原酸对照品适量,配制成浓度为 23.4、70.2、117、163.8、210.6、257.4、304.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的对照品溶液,分别吸取上述对照品溶液 5  $\mu\text{l}$  进样,记录色谱峰面积,以对照品浓度(X)为横坐标,相应峰面积(Y)为纵坐标作图,结果经回归分析,得回归方程为:

作者简介:唐慧慧,副主任药师。研究方向:中药的质量标准。

E-mail: tanghui106@yahoo.com.cn

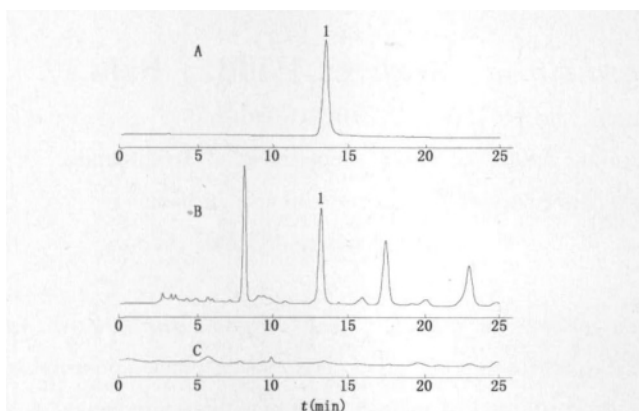
作者单位:100048 北京,海军总医院药剂科

$$Y = 149\ 600X - 78\ 469, r = 0.9999$$

表明绿原酸在 23.4 ~ 304.2 μg 范围内线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 分别精密吸取对照品溶液 (23.4 μg/ml) 3 μl 进样, 连续 5 次, 以峰面积计算, RSD 为 0.15%, 表明精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批 (批号: 09113007) 样品 5 份, 按 2.2 (2) 项下方法分别制成供试品溶液, 进样 10 μl, 测定峰面积。结果, 绿原酸的平均含量为 0.3603 mg/ml, RSD 为 0.81%, 重复性良好。



A: 对照品; B: 样品溶液; C: 阴性样品; 1: 绿原酸

图 1 HPLC 图

**2.7 稳定性试验** 供试品溶液分别于制备后 0、1、2、4、6、8、12、24 h 进行测定, RSD 为 1.50%, 表明该方法制备的供试品溶液在 24 h 内含量基本稳定。

**2.8 加样回收率试验** 吸取已知含量 (0.36 mg/ml) 的柴银口服液 (批号: 09113007) 1 ml 共 5 份, 分别精密添加绿原酸对照品, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 绿原酸的回收率测定结果

样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.36	0.32	0.68	98.71		
0.36	0.39	0.75	99.58		
0.36	0.37	0.74	103.02	99.84	1.88
0.36	0.34	0.69	98.23		
0.36	0.37	0.73	99.64		

**2.9 样品含量测定** 精密吸取对照品溶液 5 μl, 供试品溶液 10 μl, 依上述色谱条件测定, 测定结果见表 2。

表 2 柴银口服液绿原酸含量的测定结果 (n = 3)

批号	绿原酸含量 (mg/ml)
09113003	0.378
10013033	0.236
10013017	0.281
10103013	0.240
09063039	0.311
09113007	0.360

一般以平均含量的 80% 作为含量指标, 根据测定结果, 暂定本品以绿原酸 (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>) 总量计, 不得少于 0.24 mg/ml。

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的选择** 本试验比较了甲醇-水-冰醋酸、乙腈-水-磷酸、甲醇-水-冰醋酸-三乙胺系统条件下对绿原酸分离度的影响, 结果发现采用甲醇-水-冰醋酸-三乙胺 (15: 85: 1: 0.3) 洗脱时, 绿原酸即能得到良好的分离<sup>[2]</sup>。

**3.2 提取方法的选择** 对于柴银口服液中绿原酸的提取, 2010 年版《中国药典》成方制剂中口服液中绿原酸的提取方法<sup>[3]</sup>, 基本都为直接用水, 甲醇, 50% ~ 80% 甲醇, 流动相稀释定容<sup>[4]</sup>。本试验采用直接稀释定容法和超声提取法对比, 发现两者效果相同, 故采用直接稀释定容法即可。

柴银口服液中的连翘、金银花和鱼腥草药材均含有绿原酸, 绿原酸具有抗菌和抗病毒作用, 也是许多清热解毒药的有效成分。因此有必要对该药中的绿原酸进行测定。本文建立了柴银口服液中绿原酸的含量测定方法, 可作为该药品的质量控制标准。

#### [参考文献]

- [1] 江启煜, 黄文恒. 柴银口服液对大鼠内毒素诱导发热模型的影响 [J]. 贵阳中医学院学报, 2010, 32(3): 71-73
- [2] 刘刚, 谭生建, 张华, 等. HPLC 法同时测定双黄连口服液中绿原酸、连翘苷和黄芩苷的含量 [J]. 解放军药学报, 2009, 25(5): 461
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010. 611-612
- [4] 陈波. 高效液相色谱法测定复方鱼腥草口服液中黄芩苷和绿原酸含量 [J]. 中国药业, 2009, 18(20): 30-31

(收稿日期: 2011-06-09; 修回日期: 2011-08-15)

(本文编辑 魏萍)