

十一味参龙口服液的质量标准研究

巩伟^{1*}, 赵豫², 赵庆华¹, 郝少君³ (1. 济南军区联勤部药品仪器检验所, 济南 250022; 2. 解放军第72433部队门诊部, 济南 251000; 3. 解放军第371医院, 河南新乡 453000)

中图分类号 R283.66; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)35-3323-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.35.20

摘要 目的: 建立十一味参龙口服液的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对人参、黄芪、白术和甘草进行定性鉴别。采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中的淫羊藿苷、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Re含量。淫羊藿苷检测色谱柱为VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(26:74, V/V), 检测波长为270 nm; 人参皂苷Rg₁和人参皂苷Re检测色谱柱为VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 检测波长为203 nm。结果: 人参、黄芪、白术和甘草的TLC斑点清晰、分离度好。淫羊藿苷、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re进样量分别在0.252 4~4.038 4、0.250 2~4.003 8、0.249 9~3.998 7 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系(*r*分别为0.999 9、0.999 8、0.999 9, *n*均为6); 精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%; 平均加样回收率分别为98.57%、98.16%、98.93%, RSD分别为1.61%、1.34%、1.51%(*n*均为9)。结论: 所建标准可用于十一味参龙口服液的质量控制。

关键词 十一味参龙口服液; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 淫羊藿苷; 人参皂苷Rg₁; 人参皂苷Re

Quality Standard of Shiyiwei Shenlong Oral Liquid

GONG Wei¹, ZHAO Yu², ZHAO Qing-hua¹, HAO Shao-jun³ (1. Institute for Drug and Instrument Control, Joint Logistics Department of Jinan Military Region, Ji'nan 250022, China; 2. The Polyclinic of No.72433 Force of PLA, Ji'nan 251000, China; 3. No. 371 Hospital of PLA, Henan Xinxiang 453000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Shiyiwei shenlong oral liquid. METHODS: Panax ginseng, Astragalus membranaceus, Atractylodes macrocephala and Glycyrrhiza uralensis were identified by TLC. The contents of icariin, ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re were determined by HPLC. The determination of icariin was performed on Shimpack VP-ODS (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (26:74, V/V); the detection wavelength was set at 270 nm. The determination of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re were performed on Shimpack VP-ODS (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution); the detection wavelength was set at 203 nm. RESULTS: TLC spots of 4 components were clear and well-separated. Icariin showed a good linear relationship at 0.252 4-5.048 0 μg (*r*=0.999 9, *n*=6) with an average recovery of 98.57% (RSD=1.61%, *n*=9). Ginsenoside Rg₁ showed a good linear relationship at 0.250 2-4.003 8 μg (*r*=0.999 8, *n*=6) with an average recovery of 98.16% (RSD=1.34%, *n*=9) and ginsenoside Re showed a good linear relationship at 0.249 9-3.998 7 μg (*r*=0.999 9, *n*=6) with an average recovery of 98.93% (RSD=1.51%, *n*=9). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The method can be used for the quality control of Shiyiwei shenlong oral liquid.

KEYWORDS Shiyiwei shenlong oral liquid; Quality standard; TLC; HPLC; Icariin; Ginsenoside Rg₁; Ginsenoside Re

十一味参龙口服液具有益气温阳、固本涩精、活血通络之功效, 为济南军区医疗机构非标准制剂。该制剂由人参、黄芪、淫羊藿、白术、甘草、地龙等11味药材组成, 临床用于治疗慢性肾炎、肾病综合征、阳痿、早泻等, 效果较好。目前, 尚缺乏该制剂的质量控制标准。为更有效地控制该制剂的质量, 本研究对方中的人参、黄芪、白术、甘草进行薄层色谱(TLC)鉴别; 对来源于淫羊藿的有效成分淫羊藿苷和来源于人参的有效成分人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re含量进行高效液相色谱(HPLC)法测定。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪(包括SPD-20A型紫外检测器、SIL-

* 主管药师, 博士。研究方向: 药品质量分析和新药研发。电话: 0531-51637762。E-mail: gongweicn@foxmail.com

20A型自动进样器)、AUW220D型电子分析天平(日本岛津公司); TLA-1型TLC分析仪(长沙克罗玛医药科技有限公司); AS-3120A型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); Synergy-UV型超纯水系统(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

十一味参龙口服液(解放军第371医院自制, 规格: 10 ml, 批号分别为20121221、20130113、20130223), 阴性对照制剂由该制剂生产单位生产。人参皂苷Rg₁对照品(批号: 110703-201027)、人参皂苷Re对照品(批号: 110754-201123)、人参皂苷Rb₁对照品(批号: 110704-201122)、黄芪甲苷对照品(批号: 110781-200613)、白术对照药材(批号: 120925-201109)、甘草酸铵对照品(批号: 110731-201116)、淫羊藿苷对照品(批号: 110737-200415)均由中国食品药品检定研究院提供; 硅胶G薄层板(青岛海洋化工有限公司); 乙腈(色谱纯, 国药集团上海

化学试剂有限公司);水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

2.1.1 人参 取本品20 ml,用水饱和的正丁醇振荡提取3次(30、20、10 ml),合并正丁醇提取液,分别用氨试液20 ml、水20 ml洗涤,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取不含人参的阴性对照制剂20 ml,同法制成阴性对照溶液。取人参皂苷R_g₁对照品、人参皂苷R_e对照品、人参皂苷R_b₁对照品适量,加甲醇制成每1 ml各含2 mg的混合对照品溶液。照TLC法^[1],吸取上述3种溶液各5 μl,点于同一硅胶G薄层板上,以10℃以下放置后的正丁醇-乙酸乙酯-水(4:1:5, V/V/V)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰后,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,在与对照品色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的荧光斑点。TLC图见图1。

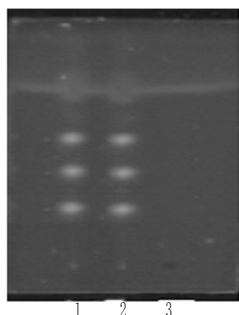


图1 人参的TLC图

1.混合对照品;2.供试品;3.阴性对照

Fig 1 TLC chromatograms of *P. ginseng*

1. mixed control; 2. test sample; 3. negative control

2.1.2 黄芪 取本品10 ml,用水饱和的正丁醇振荡提取3次,每次20 ml,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤3次,每次20 ml,弃去氨液,蒸干正丁醇液,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取不含黄芪的阴性对照制剂10 ml,同法制成阴性对照溶液。另取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每1 ml含1 mg的对照品溶液。照TLC法^[1],吸取上述3种溶液各2 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以10℃以下放置后的三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2, V/V/V)下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰后,分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,日光下,在与对照品色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的棕褐色斑点;紫外光灯(365 nm)下,在与对照品色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的橙黄色荧光斑点。TLC图见图2。

2.1.3 白术 取本品20 ml,用石油醚(30~60℃)振荡提取2次,每次20 ml,合并石油醚提取液,蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取不含白术的阴性对照制剂20 ml,同法制成阴性对照溶液。另取白术对照药材1 g,加水30 ml,煎煮30 min,放冷,滤过,滤液同法制成对照药材溶液。照TLC法^[1],吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(7:3, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰后,分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,日光下,在与对照药材色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的斑点;紫外光灯(365 nm)下,在与对照

药材色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的荧光斑点。TLC图见图3。

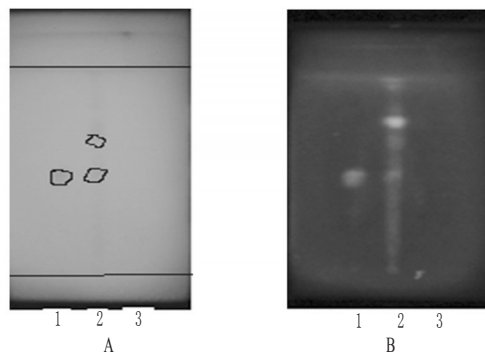


图2 黄芪的TLC图

A.日光下;B.紫外光灯(365 nm)下;1.黄芪甲苷对照品;2.供试品;3.阴性对照

Fig 2 TLC chromatograms of *A. membranaceus*

A. under light; B. under UV lamp (365 nm); 1. astragaloside A control; 2. test sample; 3. negative control

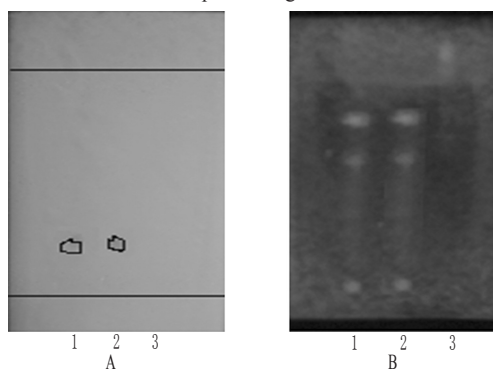


图3 白术的TLC图

A.日光下;B.紫外光灯(365 nm)下;1.白术对照药材;2.供试品;3.阴性对照

Fig 3 TLC chromatograms of *A. macrocephala*

A. under light; B. under UV lamp (365 nm); 1. Rhizoma Atractylodis Macrocephalae reference substance; 2. test sample; 3. negative control

2.1.4 甘草 取本品20 ml,乙醚提取2次,每次30 ml,弃去乙醚液,水层用乙酸乙酯提取2次,每次30 ml,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取不含甘草的阴性对照制剂20 ml,同法制成阴性对照溶液。另取甘草酸铵对照品,加甲醇制成每1 ml含2 mg的对照品溶液。照TLC法^[1],吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰后,置日光下检视。结果显示,在与对照品色谱相应的位置上,供试品色谱显相同颜色的斑点。TLC图见图4。

2.2 淫羊藿苷含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:VP-ODS(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05%磷酸溶液(26:74, V/V);检测波长:270 nm。理论板数按淫羊藿苷计算不低于1500,分离度>1.5,阴性对照无干扰。色谱见图5。

2.2.2 对照品贮备液的制备 取淫羊藿苷对照品适量,精密称定,置50 ml量瓶中,加甲醇至刻度,制成每1 ml含0.5048

mg 淫羊藿苷的对照品贮备液。

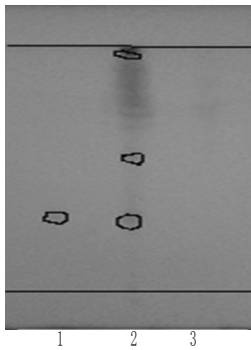


图4 甘草的TLC图

1.甘草酸铵对照品;2.供试品;3.阴性对照

Fig 4 TLC chromatograms of *G. uralensis*

1. monoammonium glycyrrhizinate control; 2. test sample; 3. negative control

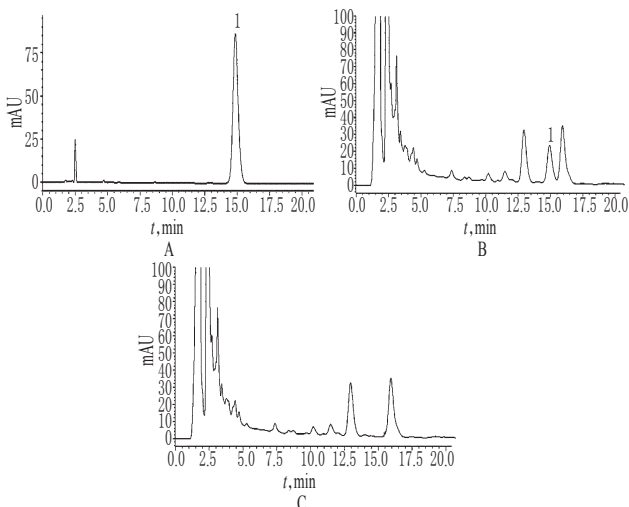


图5 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.淫羊藿苷

Fig 5 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. icaritin

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品10 ml,置100 ml量瓶中,加甲醇适量,超声处理(功率:250 W,频率:33 kHz)30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取不含淫羊藿苷的阴性对照制剂10 ml,按“2.2.3”项下方法制得阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密量取对照品贮备液0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 ml,分别置10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,制成质量浓度分别为25.24、50.48、100.96、201.92、302.88、403.84 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液。取上述对照品溶液各10 μl ,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量($x, \mu\text{g}$)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得淫羊藿苷的回归方程为 $y = 323\ 648.9x - 7\ 718.5 (r = 0.999\ 9, n = 6)$ 。结果表明,淫羊藿苷进样量在0.252 4~4.038 4 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液10 μl ,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示, $RSD = 0.92\% (n = 6)$,表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取供试品适量,共6份,分别按“2.2.3”项

下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,淫羊藿苷的平均质量浓度为0.280 9 mg/ml, $RSD = 1.37\% (n = 6)$,表明本方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液10 μl ,于0、2、4、8、12、24 h分别按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示, $RSD = 1.16\% (n = 6)$,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密量取同一批已知质量浓度的样品9份,每3份为一组,分别精密加入高、中、低3种质量浓度的淫羊藿苷对照品溶液(质量浓度分别为0.420 7、0.281 9、0.142 1 mg/ml)各5 ml,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n = 9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n = 9$)

| 测定成分 | 取样量,ml | 样品含量,mg | 加入量,mg | 测得量,mg | 回收率,% | $\bar{x},\%$ | RSD,% | |
|------------|------------|---------|---------|---------|---------|--------------|-------|--|
| 淫羊藿苷 | 5 | 1.404 5 | 2.103 5 | 3.477 9 | 99.14 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 2.103 5 | 3.456 6 | 98.53 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 2.103 5 | 3.540 1 | 100.92 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 1.409 5 | 2.784 3 | 98.94 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 1.409 5 | 2.756 5 | 97.96 | 98.57 | 1.61 | |
| | 5 | 1.404 5 | 1.409 5 | 2.830 4 | 100.58 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 0.710 5 | 2.077 6 | 98.23 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 0.710 5 | 2.047 1 | 96.79 | | | |
| | 5 | 1.404 5 | 0.710 5 | 2.031 1 | 96.03 | | | |
| | 人参皂苷 R_g | 5 | 1.289 5 | 1.923 0 | 3.117 8 | 97.05 | | |
| | | 5 | 1.289 5 | 1.923 0 | 3.109 1 | 96.78 | | |
| | | 5 | 1.289 5 | 1.923 0 | 3.178 9 | 98.95 | | |
| 5 | | 1.289 5 | 1.282 5 | 2.590 1 | 100.70 | | | |
| 5 | | 1.289 5 | 1.282 5 | 2.529 8 | 98.36 | 98.16 | 1.34 | |
| 5 | | 1.289 5 | 1.282 5 | 2.500 3 | 97.21 | | | |
| 5 | | 1.289 5 | 0.644 5 | 1.920 5 | 99.30 | | | |
| 5 | | 1.289 5 | 0.644 5 | 1.897 6 | 98.12 | | | |
| 5 | | 1.289 5 | 0.644 5 | 1.875 3 | 96.96 | | | |
| 人参皂苷 R_e | | 5 | 2.428 5 | 3.611 5 | 5.927 8 | 98.14 | | |
| | | 5 | 2.428 5 | 3.611 5 | 5.885 6 | 97.44 | | |
| | | 5 | 2.428 5 | 3.611 5 | 5.954 3 | 98.58 | | |
| | 5 | 2.428 5 | 2.407 5 | 4.851 9 | 100.33 | | | |
| | 5 | 2.428 5 | 2.407 5 | 4.819 7 | 99.66 | 98.93 | 1.51 | |
| | 5 | 2.428 5 | 2.407 5 | 4.933 1 | 102.01 | | | |
| | 5 | 2.428 5 | 1.200 5 | 3.579 3 | 98.63 | | | |
| | 5 | 2.428 5 | 1.200 5 | 3.557 2 | 98.02 | | | |
| | 5 | 2.428 5 | 1.200 5 | 3.538 7 | 97.51 | | | |

2.2.10 样品含量测定 取3批样品各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中淫羊藿苷的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/ml, $n = 3$)

Tab 2 Results of content determination for samples(mg/ml, $n = 3$)

| 批号 | 淫羊藿苷 | 人参皂苷 R_g | 人参皂苷 R_e |
|----------|---------|------------|------------|
| 20121221 | 0.280 9 | 0.257 9 | 0.485 7 |
| 20130113 | 0.284 3 | 0.258 1 | 0.486 2 |
| 20130223 | 0.279 1 | 0.257 2 | 0.485 9 |

2.3 人参皂苷 R_g 和人参皂苷 R_e 含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:VP-ODS(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~45 min, 18% A; >45~70 min, 18% \rightarrow 28% A; >70~100 min,

28%→40% A);柱温:40℃;流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm。理论板数按人参皂苷R_{g1}峰计算不低于6 000,分离度>1.5,阴性无干扰。色谱见图6。

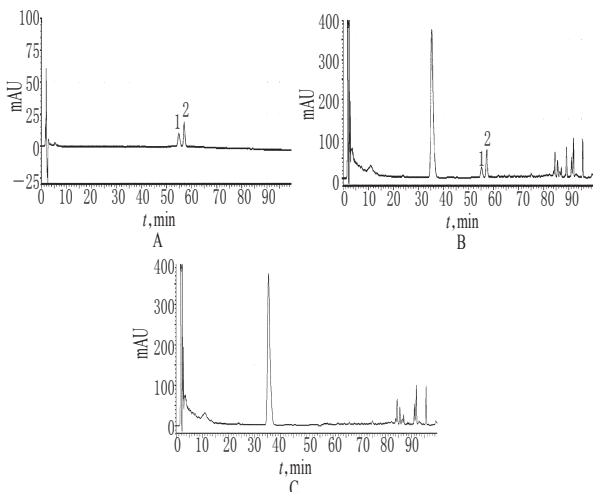


图6 人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re的高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.人参皂苷R_{g1};2.人参皂苷Re
Fig 6 HPLC chromatograms of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re

A. mixed control; B. test sample; C. negative control; 1. ginsenoside Rg₁; 2. ginsenoside Re

2.3.2 混合对照品贮备溶液的制备 取人参皂苷R_{g1}、人参皂苷Re对照品各适量,精密称定,分别置25 ml量瓶中,加甲醇至刻度,制成每1 ml含1.251 2 mg人参皂苷的R_{g1}对照品贮备液和每1 ml含1.249 6 mg人参皂苷Re的对照品贮备液。精密量取上述2种对照品贮备液各10 ml,置25 ml量瓶中,加甲醇至刻度,制成人参皂苷R_{g1}、人参皂苷Re质量浓度分别为500.48、499.84 μg/ml的混合对照品贮备溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品10 ml,用水饱和正丁醇振荡提取3次(30、20、10 ml),合并正丁醇提取液,用氨试液20 ml洗涤,分取正丁醇液,再用水20 ml洗涤,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至5 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 取不含人参的阴性对照制剂10 ml,照“2.3.3”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3.5 线性关系考察 精密量取混合对照品贮备溶液0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 ml,分别置10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,制成系列质量浓度的混合对照品溶液。取上述混合对照品溶液各10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得人参皂苷R_{g1}的回归方程为 $y=352\ 556.9x-6\ 730.5$ ($r=0.999\ 8, n=6$)、人参皂苷Re的回归方程为 $y=292\ 608.6x-3\ 703.5$ ($r=0.999\ 9, n=6$)。结果表明,人参皂苷R_{g1}、人参皂苷Re进样量分别在0.250 2~4.003 8、0.249 9~3.998 7 μg范围内与其各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.3.6 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re的RSD分别为0.67%和0.89%(n均为6),表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性试验 取本品适量,共6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录

峰面积。结果显示,人参皂苷R_{g1}的平均质量浓度为0.257 9 mg/ml, RSD=1.81%(n=6);人参皂苷Re的平均质量浓度为0.485 7 mg/ml, RSD=1.56%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.3.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液10 μl,于0、2、4、8、12、24 h分别按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re的RSD分别为1.34%和1.72%(n均为6),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.3.9 加样回收率试验 精密量取同一批已知质量浓度的样品9份,每3份为一组,分别精密加入高、中、低3种质量浓度的人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re混合对照品溶液(人参皂苷R_{g1}高、中、低质量浓度分别为0.384 6、0.256 5、0.128 9 mg/ml;人参皂苷Re高、中、低质量浓度分别为0.722 3、0.481 5、0.240 1 mg/ml)5 ml,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

2.3.10 样品含量测定 取3批样品各适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re的含量,结果见表2。

3 讨论

中药复方制剂成分复杂,进行质量控制时,干扰因素较多。在TLC鉴别中,需要通过一定的预处理,才能排除干扰,得到有效的TLC图。通过参考文献报道中人参^[1-3]、黄芪^[1,4-5]、白术^[1,6]和甘草^[1,7-8]的TLC鉴别方法,确定了本试验中的TLC条件。在各自试验条件下,供试品、对照品或对照药材的TLC图特征明显、斑点清晰、分离度较好,阴性对照均无干扰,故可认为在该试验条件下,用TLC法对制剂中的人参、黄芪、白术和甘草进行鉴别是可行的。

本制剂处方中,淫羊藿为君药,人参与之配伍,行补肾壮阳、祛风除湿之功效。淫羊藿苷为淫羊藿的主要有效成分^[9],人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re为人参的有效成分^[10],通过参考《中国药典》^[1],并结合文献^[11-12]报道,本试验采用HPLC法测定制剂中淫羊藿苷、人参皂苷R_{g1}和人参皂苷Re的含量。结果表明,本试验建立的含量测定方法精密度高,重复性和稳定性良好,结果准确,故可认为用HPLC法对该制剂进行质量控制是可行的。

综上所述,本试验建立的质量标准操作简便、结果准确、精密度好、专属性强,可用于十一味参龙口服液的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:附录34、8、283、95、80、306.
- [2] 夏继伟, 万有才, 李赟, 等. 莲杞补肾胶囊质量标准研究[J]. 中国药房, 2010, 21(7):635.
- [3] 谢玉, 冯俭, 席小兰, 等. 参归仁颗粒质量标准研究[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(4):26.
- [4] 雷钧涛, 吕士杰, 任旷, 等. TLC法定性鉴别芩丹颗粒中4味中药[J]. 中国药房, 2008, 19(3):39.
- [5] 刘玉魁, 余卫兵, 刘燕娟. 黄芪生脉口服液的质量控制[J]. 中国药师, 2010, 13(2):188.
- [6] 杨静, 马志鹏, 陈娜, 等. 橘半枳术丸的质量标准[J]. 中国药师, 2012, 15(4):468.

波长切换HPLC法快速测定柴银口服液中绿原酸、葛根素和黄芩苷的含量

李翔*,刘皈阳#,马建丽,周亮,黄欣欣(解放军总医院第一附属医院药剂药理科,北京 100048)

中图分类号 R283.611;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)35-3327-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.35.21

摘要 目的:建立同时测定柴银口服液中绿原酸、葛根素和黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为Purospher® STAR RP-18 endcapped(55 mm×4 mm,3 μm),流动相为甲醇-2%冰醋酸水溶液(梯度洗脱),检测波长为327 nm(0~<4 min)、250 nm(4~<6 min)、280 nm(6~10 min),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃。结果:绿原酸、葛根素和黄芩苷的质量浓度分别在0.436 8~8.736 0 μg/ml、0.206 4~4.128 0 μg/ml和2.060~41.200 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(r 均为0.999 9);三者精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3%;平均加样回收率分别为99.57%、99.91%和100.08%,RSD分别为1.75%、1.69%和2.20%(n 均为6)。结论:波长切换HPLC法简便、快速、准确、可靠,可用于柴银口服液质量的全面控制与评价。

关键词 柴银口服液;高效液相色谱法;波长切换;绿原酸;葛根素;黄芩苷;含量测定

Content Determination of Chlorogenic Acid, Puerarin and Baicalin in Chaiyin Oral Solution by HPLC with Switching Wavelength

LI Xiang, LIU Gui-yang, MA Jian-li, ZHOU Liang, HUANG Xin-xin (Dept. of Pharmacology, The First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of chlorogenic acid, puerarin and baicalin in Chaiyin oral solution. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Purospher® STAR RP-18 endcapped (55 mm×4 mm, 3 μm) column with mobile phase consisted of methanol-2% glacial acetic acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 327 nm(0-<4 min), 250 nm(4-<6 min) and 280 nm (6-10 min). The column temperature was set at 30 ℃. RESULTS: The liner ranges of chlorogenic acid, puerarin and baicalin were 0.4368-8.736 0 μg/ml ($r=0.999 9$), 0.206 4-4.128 0 μg/ml($r=0.999 9$) and 2.060-41.200 μg/ml($r=0.999 9$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3%. Average recoveries were 99.57% (RSD=1.75%, $n=6$), 99.91% (RSD=1.69%, $n=6$) and 100.08% (RSD=2.20%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate and reliable, and it could be used for the quality control and evaluation of Chaiyin oral solution.

KEYWORDS Chaiyin oral solution; HPLC; Switching wavelength; Chlorogenic acid; Puerarin; Baicalin; Content determination

柴银口服液是由柴胡、金银花、黄芩、葛根、荆芥、青蒿、连翘、桔梗、苦杏仁、薄荷和鱼腥草11味中药组成的抗流感制剂,具有清热解毒、利咽止咳的作用,临床上主要用于治疗呼吸道感染外感风热证,症见发热恶风,头痛、咽痛,汗出,鼻塞流涕,咳嗽,舌边尖红、苔薄黄等。目前,分别测定柴银口服液中黄芩苷、绿原酸、连翘苷等成分的方法陆续有文献报道,但各种方法采用的色谱条件不一致,且存在检测时间较长,无法用于

3个成分同时测定的不足^[1-4]。本试验采用高效液相色谱(HPLC)法结合检测波长切换技术,可在10 min内快速测定柴银口服液中绿原酸、葛根素和黄芩苷的质量浓度,方法简便、快速,结果准确可靠,可以为进一步完善制剂的质量控制和评价方法提供参考和依据。

1 材料

1.1 仪器

[7] 奥·乌力吉,白明刚,乌日吉木斯,等.清咽利喉胶囊的质量标准研究[J].中成药,2012,34(11):97.

[8] 陈志琦.六味甘草丸质量标准研究[J].中国药房,2010,21(31):70.

[9] 郭丽娜,马莹慧,赵伟,等.淫羊藿属植物中化学成分分析

* 主管药师,博士。研究方向:中药与药物分析。电话:010-66867401。E-mail:lxbj@hotmail.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:医院药学与药剂学。电话:010-66867081。E-mail:liuguivy@gmail.com

研究进展[J].中国新药杂志,2013,22(8):67.

[10] 黎阳,张铁军,刘素香,等.人参化学成分和药理研究进展[J].中草药,2009,40(1):170.

[11] 王蕾,谈瑄忠,毛春芹,等.RP-HPLC法同时测定淫桂通便颗粒中6种成分[J].中成药,2013,35(2):89.

[12] 范辉,顾泉琳,贝伟剑,等.HPLC法测定乌参醒脑滴丸中人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁和Rd[J].中成药,2012,34(7):83.

(收稿日期:2013-09-18 修回日期:2013-12-22)