

## 炎立消胶囊中原儿茶酸的含量测定研究

□王建明\* 王桂姬 孙永慧 (黑龙江中医药大学中医药研究院 哈尔滨 150040)

**摘要:**目的:测定炎立消胶囊(丁香叶)中原儿茶酸的含量。方法:HPLC法,色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub>柱(4.6×200mm,5μm),流动相为乙腈-水(15:85,V/V),流速为 1.0mL·min<sup>-1</sup>,检测波长为 260nm。结果:原儿茶酸进样量在 0.06~0.18μg 范围内呈良好的线性关系,平均回收率为 99.8%,RSD 为 1.2%。结论:本方法简便,重现性好,可作为炎立消胶囊中原儿茶酸的含量测定方法。

**关键词:**炎立消胶囊 原儿茶酸 高效液相色谱

炎立消胶囊由丁香叶单味药材加工制成,具有清热解毒,消炎止痛的功效。用于肠炎及上呼吸道感染,咽喉肿痛,急慢性扁桃体炎等细菌感染性疾病。原质量标准<sup>[1]</sup>采用分光光度法测定其中原儿茶酸的含量,此法精确度不高,专属性不强。我们采用了精确度较高的高效液相色谱法对炎立消胶囊中的原儿茶酸进行含量测定,作为产品质量评价的一个指标。

### 一、仪器与试剂

Waters 600E-2487 型高效液相色谱仪;Millennium32 色谱工作站数据处理系统;

原儿茶酸对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 809-200102);炎立消胶囊为黑龙江中医药大学制药厂提供。

实验中所用水为超纯水,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

### 二、方法与结果

收稿日期:2005-10-27

修回日期:2006-02-24

\* 联系人:王建明,教授,博士生导师,黑龙江中医药大学中医药研究院院长,长期从事中药新剂型及中药新药研究工作。Tel:0451-82196262; Fax: 0451-82196262; Email:wangjianming@hljucm.net。

32 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

#### 1. 色谱条件及系统适用性

色谱柱:大连 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(4.6×200mm,5μm);  
流动相:乙腈-水(15:85);

流速:1.0mL·min<sup>-1</sup>;柱温:27℃;检测波长:260nm。  
在上述色谱条件下原儿茶酸对照品的保留时间为 10.197min。理论板数以原儿茶酸峰计应不低于 2500,色谱图见图 1-a。

#### 2. 对照品与供试品溶液的制备

(1)对照品溶液的制备。

精密称取真空干燥后的原儿茶酸对照品 1.2mg,置 100mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得 0.012mg·mL<sup>-1</sup> 对照品溶液。

(2)供试品溶液的制备。

取本品 10 粒,倾出内容物,取约 1.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 1%盐酸无水乙醇 30mL,密塞,称定重量,超声处理 30min,放冷,再称定重量,用 1%盐酸无水乙醇补足减失的重量,滤过,取续滤液 20mL,挥干,残渣加 0.1mol/L 盐酸 20mL 溶解,转移至分液漏斗中,加乙酸乙酯萃取 4 次

(30, 20, 20, 10mL), 合并萃取液, 水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解, 并定容于 10mL 容量瓶中, 摇匀。用  $0.45\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得供试品溶液。

### 3. 检测波长的选择

精密吸取对照品溶液 2.0mL 于 10mL 量瓶中, 用流动相溶液定容, 并以流动相溶液作为参比溶液, 在 190~600nm 波长范围内进行全波长扫描, 结果显示, 原儿茶酸在 260nm 处有一最大吸收峰, 故选定 260nm 为检测波长。

### 4. 线性关系考察

精密量取(1)项下对照品溶液 5.0, 8.0, 10.0, 12.0, 15.0 $\mu\text{l}$ , 按上述色谱条件分别进样, 测定峰面积, 以原儿茶酸进样量的微克数为横坐标, 以峰面积的值为纵坐标, 作图, 得一直线, 其回归方程为:

$$Y=2.27\times 10^6-3.35\times 10^3 \quad (r=0.99967)$$

原儿茶酸进样量在 0.06~0.18 $\mu\text{g}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 5. 空白实验

按供试品溶液的制备法制成空白对照液。依法进样测定, 结果空白对照溶液在原儿茶酸保留时间处无色谱峰, 表明在实验条件下, 其他成分对测定无干扰。见图 1-c。

### 6. 精密度实验

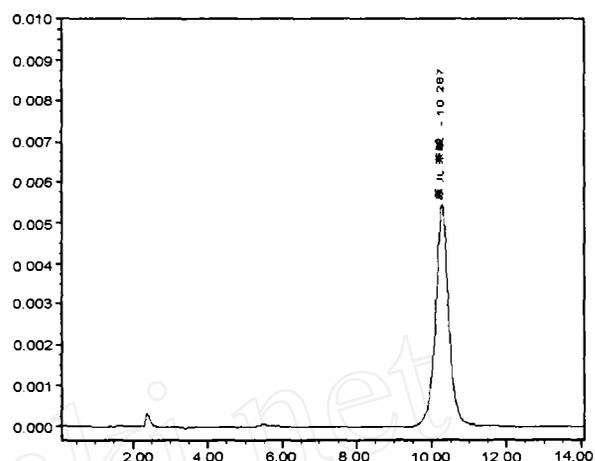
精密吸取(1)项下对照品溶液 10 $\mu\text{l}$ , 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件, 测定 5 次, 峰面积的 RSD 为 0.6%, 表明精密度较高。

### 7. 重复性实验

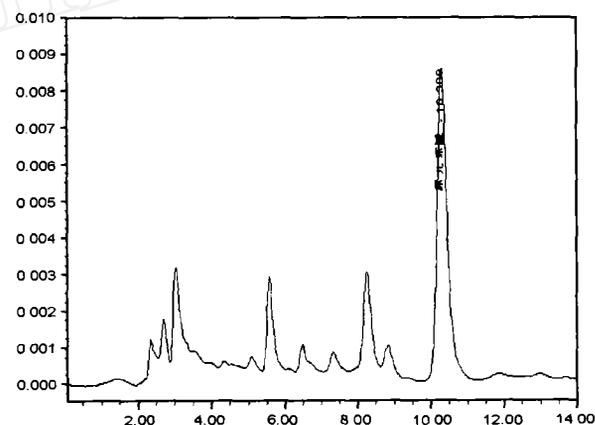
取同一批号胶囊内容物粉末 5 份, 每份约 1.5g, 精密称定, 按(2)项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样 5 $\mu\text{l}$ , 测得峰面积值, 根据面积外标法计算出该批样品中原儿茶酸的平均含量为  $0.2573\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 2.38%, 重现性较好。

### 8. 稳定性实验

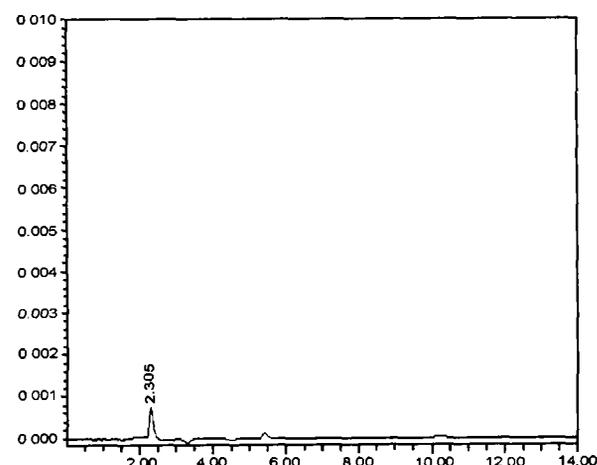
取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12h 各精密吸取 5 $\mu\text{l}$  注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行分析, 测得峰面积值, 并计算原儿茶酸含量。结果表明: 供试品溶液在 12h 内稳定性良好, RSD 为 1.5%。



a: 原儿茶酸对照品溶液



b: 供试品溶液



c: 阴性液

图 1 原儿茶酸测定 HPLC 色谱图

### 9. 回收率实验

取已知原儿茶酸含量的同一批号样品约 0.75g, 精密称定, 共 10 份, 2 份为一组, 向 5 组分别精密加入对照品溶液 1.0mL(0.2mg), 按(2)项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进样 5 $\mu$ l, 测得峰面积值, 计算平均回收率和 RSD, 结果见表 1。

实验结果表明: 10 个样品的回收率均在 98%~102%之间, 平均回收率为 99.8%, RSD 为 1.2%, 测定方法可靠。

### 10. 样品测定

取不同批号的炎立消胶囊, 按(2)项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下, 分别精密吸取对照品溶液 10 $\mu$ l 和供试品溶液 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测

定峰面积值, 并以外标法计算原儿茶酸含量。3 批样品含量测定结果见表 2。

## 三、讨论

1. 据报道<sup>[2]</sup>, 中药制剂中的原儿茶酸含量测定方法有分光光度法<sup>[3]</sup>和高效液相<sup>[4]</sup>, 而炎立消胶囊原标准<sup>[1]</sup>中采用的是分光光度法测定 3,4-二羟基苯乙醇和 3,4-二羟基苯乙酸的含量, 该法准确度不高, 而采用 HPLC 法较为简便准确, 能更有效地控制炎立消胶囊的质量。

2. 实验中分别尝试采用乙酸乙酯和乙醚作为萃取溶剂, 经 RP-HPLC 分离。从原儿茶酸的提取效果和色谱图出峰情况看, 用乙酸乙酯萃取均优于用乙醚。

3. 在流动相的选择中, 我们曾尝试用甲醇-水 (2:3)、甲醇-水-冰醋酸 (32:96:0.2) 为流动相, 但色谱峰分离情况不理想。经反复实验改用乙腈-水 (15:85) 作为流动相, 则原儿茶酸峰形较好, 无干扰, 可进行含量测定。

## 参考文献

- 1 最新国家药品标准实施手册. 炎立消片 (WS3-B-1760). 北京: 社会科学文献出版社, 2004, 1889.
- 2 胡晓伟, 赵青威. RP-HPLC 法测定风寒感冒宁冲剂中原儿茶酸、原儿茶醛的含量. 中国现代应用药理学杂志. 2002, 19(1): 53~56.
- 3 孙碧. 一阶导数光谱法测定急支糖浆中原儿茶酸. 中成药, 1992, 14(22): 11~12.
- 4 林春华, 朱品业. 高效液相色谱法测定壮腰健肾丸原儿茶酸含量. 中国中药杂志, 1996, 21(5): 288~289.

表 1 回收率测定数据表 (n=5)

取样量 g	样品含量 mg	加入量 mg	测得量 mg	回收率 %	平均值 %	RSD %
0.7856	0.2024	0.2	0.4014	99.5	99.8	1.2
0.7073	0.1820	0.2	0.3782	98.1		
0.7364	0.1895	0.2	0.3921	101.3		
0.7204	0.1854	0.2	0.3840	99.3		
0.7290	0.1876	0.2	0.3892	100.8		

表 2 样品含量测定数据表

批号	样号	供试品取样量 g	原儿茶酸含量 mg/g	平均含量 mg/g
20031220	1	1.4654	0.2562	0.2555
	2	1.4746	0.2548	
20031222	1	1.4348	0.2601	0.2650
	2	1.5027	0.2699	
20031225	1	1.3746	0.2730	0.2743
	2	1.3897	0.2756	

## Determination of Content of Protocatchuic Acid in Yanlixiao Capsules

Wang Jianming, Wang Guiji and Sun Yanghui

(School of Chinese Materia Medica, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040)

Objective To determine the content of protocatchuic acid in Yanglixiao capsules (made of clove leaves). Method HPLC method is used with chromatographic column Krmasil C18(4.6 $\times$ 200mm, 5 $\mu$ m), acetonitrile-water(15:85V/V) of mobile phase, 1.0mL.min of flow velocity and 260nm of detection wavelength. Result There would be a linear relationship

(Continued on page 31)

3. 利用 DAD 检测器可同时获得色谱-光谱三维图谱, 从该图谱中可得出苦玄参苷  $I_A$  的最大吸收波长, 进样后测得苦玄参苷  $I_A$  的最大吸收波长为 264nm。

4. 本实验采用乙腈-0.3%磷酸为流动相, 改变流动相配比进行最佳流动相的选择, 结果表明, 苦玄参苷  $I_A$  在流动相为乙腈-0.3%磷酸(34:66)时与相邻组分峰分离度  $R > 1.5$ , 达到分离要求, 能完全满足色谱峰定量要求。

5. 对同一产地(龙州)苦玄参中不同部位(全草和叶子)的苦玄参苷  $I_A$  含量进行考察, 发现叶子所含苦玄参苷  $I_A$  较全草高, 但相差不大, 说明苦玄参苷  $I_A$  主要存在于叶子。

6. 不同产地药材含量测定结果表明, 梧州所产苦玄参苦玄参苷  $I_A$  含量最高, 而平乐所产含量最低。由于 5 个不同产地苦玄参的采收季节不同, 无法对

不同产地的苦玄参苷  $I_A$  含量高低下定论。比较同一产地、不同采收季节的苦玄参中苦玄参苷  $I_A$  含量, 采收季节不同, 苦玄参苷  $I_A$  含量各不相同, 苦玄参采收季节不同是影响其含量的一个因素。

### 参考文献

- 1 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准(1990年版). 南宁: 广西科学技术出版社, 1992, 225.
- 2 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2000年版(一部). 北京: 化学工业出版社, 2000, 464.
- 3 蒋明康. 苦玄参中苦玄参苷  $I_A$  的含量测定. 桂林医学院学报, 1997, 10(6): 698.
- 4 陈勇. 几种苦玄参的中成药定性定量研究. 中国现代应用药学, 2000, 17(2): 106~108.
- 5 陈勇, 黄翠娥. 炎肺化毒片的薄层鉴别及苦玄参苷  $I_A$  的含量测定. 中成药, 1997, 19(5): 14~15.
- 6 陈勇, 黄衢. 炎见宁片的定性鉴别及其苦玄参苷  $I_A$  的含量测定. 中成药, 1997, 19(12): 12~14.

### Measurement of Piefeltarraenin $I_A$ in *Picria fel-terrae* Lour. by HPLC

Chen Yong Zhen Hanshen Liu Jing Li Yaohua Ye Le

(Faculty of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Guangxi Nanning 530001)

This article is to establish a method for measuring Piefeltarraenin $I_A$  in *Picria fel-terrae* Lour. Method: RP-HPLC. The Piefeltarraenin $I_A$  was separated on a C18ODS2 column(5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm) and detected at 264nm and 1ml/min, using acetonitrile-0.3%phosphoric acid (34:66) as the mobile phase. Result: Piefeltarraenin $I_A$  in *Picria fel-terrae* Lour. was baseline separated and determined. The linearity ranges was 0.48 $\mu$ g~2.10 $\mu$ g, correlation coefficient was 0.9999. The average recovery rate was 100.4% (RSD=1.64%, n=6). Conclusion: The method is simple, accurate and of strong specificity which can be used for quantify the main constituent Piefeltarraenin $I_A$  in *Picria fel-terrae* Lour.

Key Words: *Picria fel-terrae* Lour, Piefeltarraenin $I_A$ , content measurement, high performance liquid chromatography

(责任编辑:周立东, 责任编审:果德安, 责任译审:秦光道)

(Continued from page 34)

when the application of protocachic acid ranges within 0.06~0.18 $\mu$ g and in this case the average recovery of this acid can reach 99.8% with 1.2% of RSD. Conclusion This method is simple and convenient to application and therefore it can be used to determine the content of protocachic acid in Yanlixiao capsules.

Key Word: Yanlixiao capsule, protocachic acid, HPLC

(责任编辑:刘维杰, 责任编审:果德安, 责任译审:秦光道)

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 31