

100ml 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。得到相当于供试品溶液 2.0%、1.0%、0.5%、0.25%、0.1% 的溶液。按样品含量测定项下的色谱条件, 分别取上述溶液 10 μ l 注入液相色谱仪, 使溶液主峰的保留时间约为 6 分钟, 理论板数按氢氯噻嗪峰计算不得小于 7000, 重复进样 5 次, 计算每种溶液的平均面积及相对平均偏差值。结果见表 3

表 3 响应值测定结果($n=5$)

浓度 (%)	平均面积	相对平均偏差 (%)
2.0%	49871	0.79
1.0%	24774	1.62
0.5%	12208	2.26
0.25%	6177	6.83
0.1%	2386	14.98

三、讨论

1. 原标准含量测定是 UV 法, 本试验采用 HPLC 法, 将氢氯噻嗪与有关物质分离, 分离度好, 结果更准确地反映出样品的纯度与质量。

2. 测定有关物质的供试品溶液浓度为含量测定的 10 倍, 从表 3 可以看出: 有关物质的对照溶液的浓度为供试品溶液的 1.0%, 测定结果的相对平均偏差较小, 有较强的可操作性。浓度加大将放宽有关物质的检测限度, 减小都将影响测定结果的准确

性。因此按本文的方法测定比较可行, 结果按不加校正因子的自身对照法计算。建议原标准可增加有关物质检查项。

3. 该样品在室温避光条件下比较稳定, 但对光、热、酸、碱及氧化剂均不稳定。在较强的破坏条件下均可很快分解, 从实验结果得知破坏能力依次为: 饱和 NaOH 溶液 > 30% H₂O₂ 溶液 > 浓 HCl > 80 加热 > 日光照射。

4. 测定方法研究结果表明, 该方法精密度高, 重现性好, 回收率高, 含量测定及有关物质检测限较低, 适用于氢氯噻嗪片的含量及有关物质测定。

参考文献

- [1] BP 2003 943~944
- [2] USP27.2004 918~919
- [3] 陈新谦 金有豫 汤光. 新编药理学. 第 15 版, 北京: 人民卫生出版社 490~491
- [4] 中华人民共和国药典, 二部. 2000: 486
- [5] 王宜祥等. 复方卡托普利片中卡托普利和氢氯噻嗪的 HPLC 测定. 中国医药工业杂志, 2003. 34(8): 404~405
- [6] 朱娟等. 复方尼贝沙坦片尼贝沙坦和氢氯噻嗪的 HPLC 测定. 中国医药工业杂志, 2003. 34(11): 567~569
- [7] 费培根等. 高效液相色谱法测定复方阿米洛利片的含量. 中国医院药学杂志, 2004. 24(1): 33~34

HPLC 法测定消癌平口服液中绿原酸的含量

于文静¹ 王焕群²(1. 吉林省药品检验所; 2. 吉林省药物研究所 长春 130062)

摘要 目的: 研究消癌平口服液中绿原酸的定量方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 \times 4.6mm 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液(9:91); 检测波长: 327nm。结果: 绿原酸的线性范围为 0.03985~0.797 μ g($r=1.0000, n=5$), 平均加样回收率为 100.3%, RSD=1.23%。结论: 本法简便、灵敏、准确, 可用于消癌平口服液的质量控制。

关键词: 消癌平口服液; 绿原酸; 乌骨藤; 高效液相色谱

Determination of Chlorogenic acid in Xiaoaiping Oral Solution by HPLC

Yu Wen-jing¹, Wang Huan-qun²(1. Jilin Institute for Drug Control; 2. Medicinal Material Institute of Jilin, Changchun 130062)

Abstract Objective: An assay method was developed for the determination of chlorogenic acid in Xiaoaiping Oral Solution by HPLC. **Method:** The analysis was performed on Diamonsil C₁₈(250 \times 4.6mm 5 μ m) column. Mobile phase: acetonitrile-0.4% phosphoric acid(9:91); detector wavelength: 327nm. **Results:** The linear range is 0.03985~0.797 μ g; relevant coefficient $r=1.0000(n=5)$; The average recovery is 100.3%, RSD=1.23%. **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate. It is suitable for the quality control of Xiaoaiping Oral Solution.

Key words: Xiaoaiping Oral Solution, Wuguteng, HPLC, chlorogenic acid

消癌平口服液系由乌骨藤制成的单方制剂, 具有抗癌、消炎、平喘之功效。用于食道癌、胃癌、肺癌、对恶性淋巴瘤、大肠癌、宫颈癌、白血病等多种恶性肿瘤亦有疗效。为有效的控制成品质量, 选定乌骨藤

所含主要有效成分绿原酸为定量指标,采用高效液相色谱法,对其进行定量分析。方法准确、专一,适用于该制剂的质量分析检验。

一、仪器与试剂

1. 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪。

2. 试剂 绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所;乙腈为色谱纯;水为超纯水;其它试剂均为优级纯。

二、方法与结果

1. 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 × 4.6mm 5μ) 色谱柱。流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液(9:91); 检测波长: 327nm。温度: 室温。

2. 对照品溶液的配制

精密称取绿原酸对照品适量,置棕色量瓶中加入 50% 甲醇制成每 1ml 含 20μg 的溶液,即得。

3. 供试品溶液的制备

精密量取本品 10ml,精密加水 10ml,再精密加甲醇 20ml,摇匀,静止 1 小时,滤过,取续滤液,即得。

4. 空白试验

取不含乌骨藤的阴性制剂,按 3 项方法制成阴性对照溶液。照 1 项色谱条件测定。结果阴性对照溶液在与绿原酸相同保留时间处,无色谱峰出现。

(见图 1)。

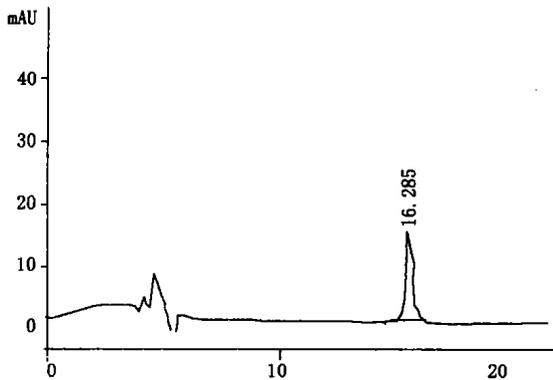


图 1 对照品溶液 HPLC 色谱图

5. 线性关系考察

精密称取绿原酸对照品适量,分别加甲醇制成每 1ml 含 39.85μg 的溶液,精密吸取对照品溶液 1、5、10、15、20μl 测定,结果以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标。绘制标准曲线,计算,得回归方程为: $A = 2739.30639C + 0.470968$, $r = 1.0000$ 。绿原酸进样量在 0.03985~0.797μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

6. 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液 10μL,连续进样 5 次,测得绿原酸峰面积积分值,平均值为 $\bar{X} = 252.888564$ RSD= 1.52% (n= 5)。

7. 重现性试验

取批号为 20030301 的样品 5 分,按 3 项方法测定,结果平均含量为 38μg/ml, RSD= 1.16% (n= 5)

8. 回收率试验

取已知含量的消癌平口服液(批号: 20030301, 含量为 38μg/ml) 5 份,每份精密称取本品 5ml,水 15ml,准确加入 0.066mg/ml 绿原酸对照品溶液 5ml(溶剂为甲醇溶液),加甲醇溶液 15ml,按 2.3 项方法制备成供试品溶液,照 1 项色谱条件测定,结果平均回收率为 100.3%, RSD= 1.23% (n= 5),见表 1。

表 1 回收率试验结果

试验号	取样量 (ml)	样品中已知对照量(mg)	加入对照品量(mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)
1	5	0.1900	0.33	0.5260	101.82
2	5	0.1900	0.33	0.5177	99.30
3	5	0.1900	0.33	0.5162	98.85
4	5	0.1900	0.33	0.5225	100.76
5	5	0.1900	0.33	0.5233	101.00
\bar{X}		= 100.3%	RSD=	1.23%	

9. 样品的测定

取样品 3 批,按 3 项方法制成供试品溶液,并照 1 项色谱条件测定,结果见表 2(见图 2、3)。

表 2 三批样品含量测定结果

批号	绿原酸含量(μg/ml)	均值(μg/ml)
20030301	37.2	37.2
20030302	38.3	37.9
20030303	40.6	38.3

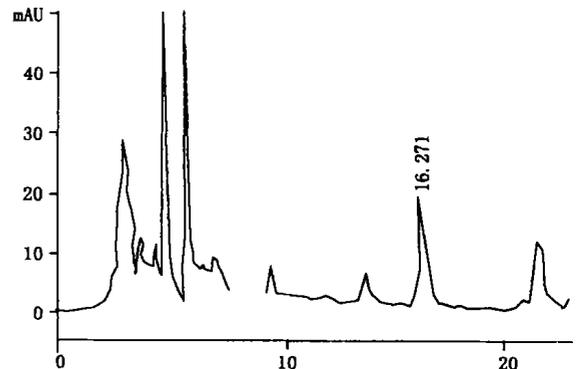


图 2 供试品溶液 HPLC 色谱图

10. 乌骨藤药材含量测定 取(下转第 76 页)

研究报告糖衣片隔离层的虫胶对本文方法测定 T₃、T₄ 含量有干扰^[5], 但经核实文中 5 厂家的甲状腺片

糖衣的隔离层均未用虫胶, 且试验考察了作为质控样品的糖衣片与去糖衣片的含量未见明显差异。

表 2 甲状腺片质量标准比较及本文测定结果

	USP (2004)	ChP2005 年版	本文测定结果
规格	65mg 甲状腺粉/片	40mg 甲状腺粉/片	40mg 甲状腺粉/片
定量方法	酶水解-HPLC 法	氧瓶燃烧-分光光度法	参照 USP
含量	T ₃ 9μg/片; T ₄ 38μg/片 限度范围: ±10%	甲状腺粉特有的化合碘() 120μg/片 限度范围: ±15%	T ₃ 8.42~11.76μg/片 T ₄ 30.10~46.25μg/片

5. ChP 与 USP 质量标准比较及本文测定结果, 如表 2。由此可见, 我国生产的甲状腺片中 T₃ 和 T₄ 的含量与 USP 规定其 T₃ 和 T₄ 含量为 9μg/片和 38μg/片基本相当。按 USP 规定每片 T₃、T₄ 含量判断, Z₂、Y₁ 和 J₁₃ 批含量符合要求; 其余 10 批含量不符合要求, 且 S 厂 T₃、T₄ 含量均高于 USP 的规定。由此可见, 如果 ChP 将本品的标准修订为 USP 的方法和限度要求, 我国的部分厂家可以达到 USP 的规定。文中的样品虽按 ChP 规定为合格上市药品, 但按 USP 方法测定结果表明厂间 T₄ 差异较大, 对临床有潜在影响。

四、小结

本实验测定各厂家生产的甲状腺片中 T₃、T₄ 含量的结果, 与我院病人反映更换不同品牌的本品后疗效有差异之间存在一定的相关性, 并且与 USP 相比, ChP2005 年版控制甲状腺片含量的标

准尚不是最佳方法, 所以建设 ChP 考虑用 USP 版的方法测定 T₃、T₄ 的含量。

参考文献

- [1] 汤光, 李大魁. 现代临床药理学. 第 1 版. 北京: 化学工业出版社, 2003: 815~818.
- [2] 黎明, 李吉学, 李雄波等. 甲状腺片中碘的电位分析. 海军医高专学报, 1996, 18(4): 193~195
- [3] 王荣, 贾正平, 谢景文等. 高效液相色谱-手性配位基交换流动相法拆分甲状腺片中甲状腺素对映体. 药物分析杂志, 2002, 22(4): 267~269.
- [4] Gika H, Lammerhofer M, Papadoyannis I et. Direct separation and quantitative analysis of thyroxine and triiodothyronine enantiomers in pharmaceuticals by high-performance Liquid chromatography. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2004, 800(1~2): 193~201.
- [5] Richheimer SL, Jensen CB. Determination of liothyronine and levothyroxine in thyroid preparations by liquid chromatography. J Pharm Sci, 1986, 75(2): 215~217.
- [6] 白耀. 甲状腺病学. 第 1 版. 北京: 科学技术出版社, 2003: 47.

(上接第 51 页)

本品粉末(过三号筛)约 1.0g, 加 50% 甲醇 50ml, 称定重量, 浸泡 2 小时, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 滤过, 精密吸取 25ml, 蒸干, 残渣加 50% 甲醇转移至 5ml 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。照 1 项色谱条件测定, 结果见表 3。

表 3 三批药材含量测定结果

批号	含量(%)		均值(%)
1	0.0096	0.0096	0.010
2	0.0093	0.0093	0.009
3	0.0094	0.0097	0.010

三、讨论

1. 供试品提取条件的选择

经试验比较不同提取条件, (1) 取本品调 pH 值 9~10 用醋酸乙酯提取, 弃取醋酸乙酯液, 调 pH 值 2~3, 再用醋酸乙酯提取, 得到供试品溶液。(2) 取本品, 加等量的甲醇, 摇匀, 滤过, 得到供试品溶液。经

比较, 方法(2) 提取含量较高, 操作简便。

2. 色谱柱的选择

比较试验 Diamonsil C₁₈(250×4.6mm 5μ) 及 Techspere ODS C₁₈(250×4.6mm 5μ) 色谱柱, 结果显示, 前者为佳, 达到基线分离。选择不同比例的乙腈-0.4% 磷酸溶液为流动相, 结果以(9:91) 分离效果最佳。根据绿原酸的紫外光谱扫描测定及参考中国药典 2000 年版一部金银花中绿原酸的含量测定方法, 选择测定波长为 327nm。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [2] 江苏新医学院编. 中药大辞典. 1977 年 7 月第一版.
- [3] 刘群峰, 曹红, 靳守东等. 比色法测定消癌平注射液中总酚酸的含量. 华西药学杂志. 2003, 18(3): 220-222.
- [4] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南(药理学、毒理学).
- [5] 周明扬主编. 实用药品检验.
- [6] 刘玉芬, 孙凤英, 王玲. 乌骨藤化学成分研究. 中成药, 1998, 20(9): 35-36