

HPLC 测定炒苍耳子配方颗粒中绿原酸及咖啡酸的含量

吴怀恩, 韦志英, 韦建华, 蓝仁青, 黄海燕(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

摘要: 目的 建立同时测定炒苍耳子配方颗粒中绿原酸和咖啡酸的高效液相色谱法。方法 采用 Shim-pack VP-ODS 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(10:90); 检测波长为 327 nm; 柱温为 35 ℃。结果 绿原酸在 0.215 2~1.721 6 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 9$), 咖啡酸在 0.022 96~0.114 8 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 9$); 绿原酸、咖啡酸平均加样回收率分别为 96.39%(RSD=1.48%)、100.02%(RSD=1.81%)。结论 所建立的方法简便、准确, 可同时测定炒苍耳子配方颗粒中绿原酸和咖啡酸的含量。

关键词: 高效液相色谱法; 炒苍耳子配方颗粒; 绿原酸, 咖啡酸

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)08-0744-03

Determination of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid in Chaocangerzi Dispensing Granule by HPLC

WU Huaien, WEI Zhiying, WEI Jianhua, LAN Renqing, HUANG Haiyan(College of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC method for simultaneous determination of chlorogenic acid and caffeic acid in Chaocangerzi dispensing granule. **METHODS** Chlorogenic acid and caffeic acid were separated on Shim-pack VP-ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column and detected at 327 nm, 35 ℃, with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (10:90) as mobile phase. **RESULTS** The method had good linear relationship within the range of 0.215 2–1.721 6 μg ($r=0.999\ 9$) for chlorogenic acid and 0.022 96–0.114 8 μg ($r=0.999\ 9$) for caffeic acid, respectively. The results of the average recovery were 96.39% (RSD=1.48%) and 100.02% (RSD=1.81%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and can be used to simultaneously determine chlorogenic acid and caffeic acid in Chaocangerzi dispensing granule.

KEY WORDS: HPLC; Chaocangerzi dispensing granule; chlorogenic acid; caffeic acid

苍耳子系菊科植物苍耳 *Xanthium sibiricum* Part. 的干燥成熟带总苞的果实, 味辛、苦, 性温, 有毒, 归肺经。具有散风除湿、通鼻开窍的功效, 用于治疗风寒头痛、鼻渊流涕、风疹瘙痒和湿痹拘挛等症^[1]。自古以来, 多要求以炒后碾去刺入药, 生品少用。其炮制目的主要是为了降低毒性, 并易于去刺和洁净药物^[2]。炒苍耳子配方颗粒是其生品按药典规定炒制后, 经水提、浓缩、干燥、制粒等工序制成的单味中药配方颗粒剂。据报道^[3-5], 绿原酸、咖啡酸等酚酸类化合物为苍耳子的活性成分。中国药典 2005 年版仅有药材性状和薄层色谱鉴别, 并未对苍耳子及其炒制品规定含量测定项目。笔者采用高效液相色谱法同时测定制剂中绿原酸、咖啡酸含量, 方法简便可行、快速, 可用于产品的质量的控制。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技

公司); LG16-W 型高速离心机(北京医用离心机厂); B3500S-MT 超声清洗仪(上海必能信超声有限公司); 电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂); BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯); SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司)。

1.2 试剂

绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200413, 含量: 98.7%); 咖啡酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 11885-200102, 含量: 99.1%); 炒苍耳子配方颗粒(江阴天江药业有限公司, 批号: 0804035, 0812028, 0904118, 规格: 每包 0.5 g, 相当于 10 g 药材); 乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack VP-ODS 柱(日本岛津, 250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(10:90); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为

作者简介: 吴怀恩, 女, 博士生, 副教授, 讲师

Tel: (0771)3137585

E-mail: wuhe0001@yahoo.com.cn

327 nm; 柱温 35 ℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取 120 ℃ 减压干燥至恒重的绿原酸、咖啡酸对照品适量，加 75%甲醇溶解分别制成 0.215 2, 0.022 96 mg·mL⁻¹ 的溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取炒苍耳子配方颗粒 0.5 g，置具塞锥形瓶中，精密加 75%甲醇 35 mL，密塞，称定重量，超声提取 60 min，放冷，

称定重量，用 75%甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液离心即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取配方颗粒中的辅料即交联淀粉适量，按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

分别精密吸取上述绿原酸对照品溶液、咖啡酸对照品溶液各 2 μL、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 进样分析。结果见图 1。

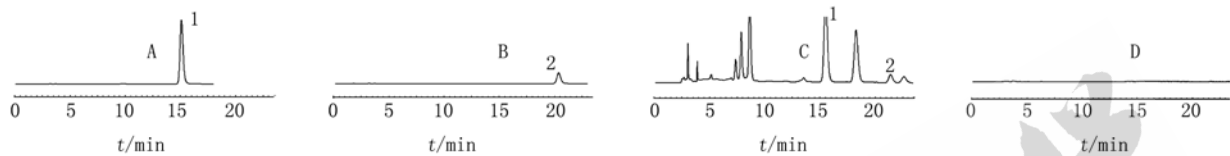


图 1 高效液相色谱图

A-绿原酸对照品; B-咖啡酸对照品; C-供试品; D-阴性对照样品; 1-绿原酸; 2-咖啡酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A-reference standard of chlorogenic acid; B-reference standard of caffeic acid; C-Chaocangerzi dispensing granule; D-blank; 1-chlorogenic acid; 2-caffeic acid

2.4 线性关系考察

分别精密吸取绿原酸对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 μL，咖啡酸对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL 注入液相色谱仪进行分析，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，得到绿原酸回归方程为： $Y=2\ 877.3X+7.783\ 5$ ， $r=0.999\ 9$ ；咖啡酸回归方程为： $Y=5\ 330.3X+4.609\ 1$ ， $r=0.999\ 9$ 。结果表明，绿原酸、咖啡酸分别在 0.215 2~1.721 6 μg 和 0.022 96~0.114 8 μg 内，进样量与峰面积呈良好线性关系。

2.5 仪器精密度试验

分别精密吸取“2.2.1”项下绿原酸对照品溶液、咖啡酸对照品溶液各 2 μL，连续进样 6 次，计算峰面积 RSD 分别为 0.27%，0.45%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液，按“2.2.2”项下方法制备，按“2.1”项下色谱条件分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样 10 μL，测定绿原酸和咖啡酸的峰面积，RSD 分别为 1.01%，2.76%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批(批号：0904118)供试品 6 份，分别按“2.2.2”项下方法制备，以“2.1”项下色谱条件进样 10 μL，结果绿原酸平均含量为 4.309 2 mg·g⁻¹，

RSD 为 2.54%；咖啡酸平均含量为 0.251 2 mg·g⁻¹，RSD 为 2.74%。表明本法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取同一批(批号：0904118)已知含量的供试品 6 份，分别精密加入一定量的绿原酸、咖啡酸对照品，按“2.2.2”项下方法制备，以“2.1”项下色谱条件进样 10 μL，测定绿原酸、咖啡酸的含量。结果表明，本法准确度较好。见表 1。

表 1 加样回收率测定结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=6$)

化合物	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均 回收率/%	RSD/ %
绿原酸	1.077 7	0.968 4	2.006 6	95.91	96.39	1.48
	1.074 7	0.968 4	1.997 6	95.30		
	1.079 0	0.968 4	2.002 7	95.38		
	1.082 1	0.968 4	2.008 1	95.63		
	1.079 9	0.968 4	2.020 8	97.16		
	1.081 6	0.968 4	2.039 8	98.94		
咖啡酸	0.062 8	0.068 9	0.132 2	100.69	100.02	1.81
	0.062 6	0.068 9	0.130 7	98.84		
	0.062 9	0.068 9	0.130 6	98.26		
	0.063 1	0.068 9	0.131 1	98.73		
	0.063 0	0.068 9	0.132 2	100.51		
	0.063 1	0.068 9	0.134 1	103.12		

2.9 样品的测定

按“2.2.2”项下方法和“2.1”色谱条件，对3批的炒苍耳子配方颗粒进行含量分析，结果见表2。

表2 样品中绿原酸和咖啡酸含量测定结果(n=3)

Tab 2 Determination of chlorogenic acid and caffeic acid in samples(n=3)

批号	绿原酸含量/ mg·g ⁻¹	RSD/%	咖啡酸含量/ mg·g ⁻¹	RSD/%
0804035	4.961 8	1.31	0.435 8	1.25
0812028	3.922 5	1.42	0.232 9	1.33
0904118	4.311 1	1.81	0.256 2	1.29

3 讨论

据报道^[6]，从苍耳子抗炎活性部位中分离得到的酚酸类化合物有咖啡酸、绿原酸、1,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4-*O*-咖啡酸奎宁酸等。炒苍耳子配方颗粒由炒苍耳子经水提、浓缩、干燥、制粒等工序制成，其中的酚酸类成分在热水中溶解性较好，因此可考虑作为其颗粒剂含量测定的指标成分。笔者在预试验中检出该配方颗粒含有绿原酸和咖啡酸，因此本试验采用此2种成分的含量控制该制剂的内在质量。结果表明，同一产家不同批号炒苍耳子配方

颗粒中指标成分绿原酸和咖啡酸的含量存在一定差异，这可能与苍耳子的采收季节，来源及加工过程有关。而色谱图中的其他成分有待进一步研究，以便为炒苍耳子配方颗粒制定较全面的质量控制标准提供科学依据。

REFERENCES

[1] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 111-112.

[2] CAO L P, ZANG Z H, LIAO H L, et al. Research progress on toxic ingredients and processing procedure of *Fructus Xanthii* [J]. Chin Med Her(中国医药导报), 2008, 5(8): 22-23.

[3] HAN T, LI H L, HU Y, et al. Phenolic acids in *Fructus Xanthii* and determination of contents of total phenolic acids in different species and populations of *Xanthium* in China [J]. J Chin Integ Med (中西医结合学报), 2006, 4(2): 194-198.

[4] MING Q L, GAO X, ZHANG H, et al. Determination of chlorogenic acid in three species of cocklebur fruits from different regions of China by HPLC method [J]. Pharm Care Res(药学服务与研究), 2008, 8(4): 258-260.

[5] DAI Y H, CUI Z, WANG D, et al. Chemical constituents from the fruits of *Xanthium sibiricum* [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2008, 25(8): 630-632.

[6] HAN T. Bioactive constituents and quality evaluation of *Fructus Xanthii* [D]. The Second Military Medical University, 2006.