

品镉限量(Cd) $\leq 0.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ [7-9]。3 批藏力康胶囊镉的含量均低于上述标准的要求。

本研究采用湿法快速消解-石墨炉法测定藏力康胶囊中镉的含量,该试验方法快速简单易行,灵敏度高,结果准确、可靠,可以作为测定藏力康胶囊等保健食品中镉元素的一种可行的方法。

参考文献:

- [1] 沈南英,柯传奎. 青海冬虫夏草菌粉研究概况[J]. 中国现代应用药学, 1986, (3):44-45.
- [2] 祝希媛. 人工培养冬虫夏草菌粉对细胞免疫的抑制作用[J]. 中西医结合杂志, 1990, 10(8): 485-487.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 32.
- [4] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T5009.15-2003. 食品中镉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 111-120.
- [5] 刘绮丽, 农炫明. 石墨炉原子吸收光谱法测定明目地黄胶囊中重金属镉的含量[J]. 海峡药学, 2008, 20(4): 44-45.
- [6] 俞辉, 陈超, 等. 石墨炉原子吸收光谱法检测胶囊中铬元素的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(11): 1644.
- [7] 李敏, 刘渝, 周睿, 等. 国内外有关中药中重金属和砷盐的限量标准及分析[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2859-2860.
- [8] 贾敏如, 陈家春. 中、美、英、日和欧洲药典中植物药重金属和农药残留量的规定及分析[C]. 中医药现代化国际科技大会论文集, 2002: 157.
- [9] 陆龙根. 植物类中药材中砷、镉和铅的含量及安全性评价[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(1): 51.

(编辑: 邓响潮)

HPLC 法同时测定金归洗液中绿原酸和蛇床子素的含量

毛菊华¹, 王伟影¹, 张玲丽², 王君莺², 薛薇³ (1. 丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000; 2. 浙江圣华药业有限公司, 浙江 缙云 321402; 3. 广西中医药大学附属瑞康医院药学部, 广西 南宁 530011)

摘要: **目的** 建立同时测定金归洗液中绿原酸和蛇床子素含量的高效液相色谱(HPLC)法。**方法** 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 324 nm; 柱温为 30 ℃。**结果** 金归洗液中绿原酸和蛇床子素分别在 15.23~152.27 μg·mL⁻¹ ($r=0.9999$), 4.35~43.52 μg·mL⁻¹ ($r=0.9999$) 范围内浓度与峰面积呈良好线性关系, 其平均加样回收率分别为 98.13%, RSD=1.51%; 98.69%, RSD=0.92% ($n=6$)。**结论** 该方法简单、准确、重复性好, 可用于金归洗液中绿原酸和蛇床子素含量的同时测定。

关键词: 金归洗液; 绿原酸; 蛇床子素; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)05-0621-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.025

Simultaneous Determination of Chlorogenic Acid and Osthole in Jingui Lotion by HPLC

MAO Juhua¹, WANG Weiying¹, ZHANG Lingli², WANG Junying², XUE Wei³ (1. Lishui Institute for Food and Drug Control, Lishui 323000 Zhejiang, China; 2. Zhejiang Shenghua Pharmaceutical Co., Ltd., Jinyun 321402 Zhejiang, China; 3. Dept. of Pharmacy, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011 Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a HPLC method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and osthole in Jingui Lotion. **Methods** The HPLC method was performed on a ZORBAX SB - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column. The mobile phase was a solution of acetonitrile -0.2 % phosphoric acid solution (gradient elution) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 324 nm, and the column temperature was 30 ℃. **Results** A good

收稿日期: 2014-04-23

作者简介: 毛菊华, 女, 硕士, 中药师, 研究方向: 中药与天然药物活性成分及质量评价研究。Email: maomaotou198712@163.com。通讯作者: 王伟影, 主管中药师, 研究方向: 中成药、中药材(饮片)、兽药质量分析。Email: onlyying0508@gmail.com。

linearity of chlorogenic acid was shown in the range of $152.27 \sim 15.23 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$), and that of osthole was in the range of $4.35 \sim 43.52 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$). The average recovery rate was 98.13 % with RSD 1.51 % for chlorogenic acid, and was 98.69 % with RSD 0.92 % ($n=6$) for osthole. **Conclusion** The established method is simple, accurate and with good reproducibility, which can be used for the simultaneous determination of osthole and chlorogenic acid in *Jingui* Lotion.

Keywords: *Jingui* Lotion; Chlorogenic acid; Osthole; HPLC

金归洗液为常用妇科洗剂,主要由蛇床子、金银花、大黄、艾叶、苦参、当归、威灵仙、木香等多种中药经提取制成,具有清热、祛湿、止痒的功效,主要用于妇科外阴瘙痒,带下量多等症。原标准^[1]以金银花中绿原酸为指标性成分,现代研究表明艾叶中也含有一定量的绿原酸(Chlorogenic acid)^[2],因此以该单一成分作为质控标准存在一定的不足。蛇床子同为本方主药,其主要成分蛇床子素(Osthole)具有较强的抗菌、消炎、杀虫活性^[3],故本研究增加蛇床子素为指标成分,并采用高效液相色谱法同时测定该两种成分的含量,以期作为该制剂的质控标准,为企业升级该标准提供方法依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent G4212B 二极管阵列检测器,美国安捷伦公司;XS104 型电子天平,上海恒刚衡器有限公司;DL-360D 型智能超声波清洗器,上海之信仪器有限公司。绿原酸对照品(批号:110753-201314,纯度 96.6 %),蛇床子素对照品(批号:110822-200406,纯度 100.0 %),均购自中国药品生物制品检定所。乙腈、磷酸为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯。金归洗液,浙江圣华药业有限公司,批号:130912、131217、140101、130913、140103、130908、130910、130907、140102、140104、131208。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-0.2 % 磷酸水溶液(B),梯度洗脱条件:1~9 min, 9 % ~13 % A; 9~11 min, 13 %~65 % A; 11~23 min, 65 % A; 23~24 min, 65 %~9 % A,流速为 1.0 mL·min⁻¹;柱温为 30 ℃;检测波长为 324 nm,进样量为 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取蛇床子素对照品 10.88 mg,置 25 mL 容量瓶中,加入甲醇超声溶解并

稀释至刻度;精密称取绿原酸对照品 12.61 mg,置 20 mL 容量瓶中,加入甲醇超声溶解并稀释至刻度。分别精密量取蛇床子素对照品溶液 2 mL 和绿原酸对照品溶液 5 mL 置同一 20 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取金归洗液 5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加入 50 % 甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

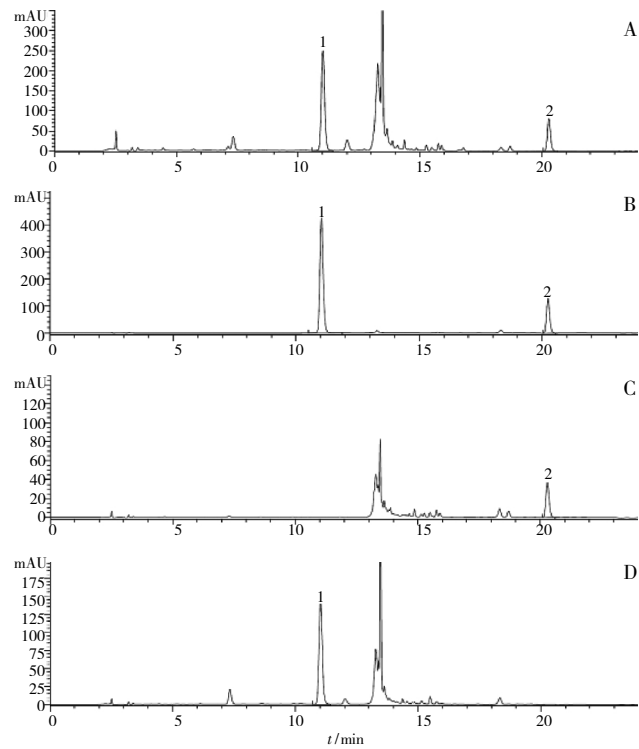
2.2.3 阴性对照溶液的制备 按金归洗液处方比例分别制成缺金银花、艾叶的阴性对照样品和缺蛇床子的阴性对照样品,并按照 2.2.2 项下供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 方法专属性试验 取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图,见图 1。结果显示,阴性对照溶液在对照品色谱峰相应位置上无吸收峰,说明样品中其他物质对样品测定结果无影响。在该色谱条件下,两种成分均可达到基线分离,分离度均大于 1.5。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按 2.1 项下色谱条件进行测定,以峰面积(Y)对浓度(X)进行线性回归,得到绿原酸回归方程为 $Y=30.3467X+17.1059$, $r=0.9999$,线性范围: $15.23 \sim 152.27 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;蛇床子素回归方程为 $Y=35.2193X+5.0033$, $r=0.9999$,线性范围: $4.35 \sim 43.52 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5 精密度试验 精密吸取 2.2.1 项下混合对照品溶液 10 μL,按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 5 次,记录各组分峰面积,计算得绿原酸和蛇床子素峰面积的 RSD 分别为 0.14 % 和 0.13 %,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品(批号:140102),精密量取 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,计算得绿原酸和蛇床子素含量的 RSD 分别为 0.16 % 和 1.25 %,结果表明分析方法的重复性良好。



A. 样品；B. 混合对照品；C. 缺金银花和艾叶阴性对照品；D. 蛇床子阴性对照品。1. 绿原酸；2. 蛇床子素

图 1 金归洗液 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms of *Jingui Lotion*

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，分别在放置 0，2，4，8，12，24 h 时，按 2.1 项下色谱条件进样测定，计算得绿原酸和蛇床子素峰面积的 RSD 分别为 0.24 % 和 0.85 %，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密量取已知含量的样品（批号：140102）2 mL，共 6 份，分别精密加入绿原酸对照品溶液（0.786 mg·mL⁻¹）和蛇床子素对照品溶液（0.087 mg·mL⁻¹）各 1 mL，按 2.2.2 项下方法制备回收率试液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，计算得绿原酸和蛇床子素回收率分别为 98.13 %、98.69 %，RSD 分别为 1.51 %、0.92 %。

2.9 样品测定 见表 1。按 2.2.1 项下方法制备 11 批供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，以外标法计算。

3 讨论

本研究考察了不同流动相系统，结果以乙腈-0.2 % 磷酸水进行测定，各成分分离效果较理想且峰形较佳。绿原酸和蛇床子素的吸收波长分

表 1 样品含量测定结果(μg·mL⁻¹，n=2)

Table 1 Results of content determination of samples

批号	绿原酸	蛇床子素
130912	348.33	48.71
131217	394.51	38.70
140101	384.40	40.66
130913	375.44	46.88
140103	369.77	48.36
130908	395.00	74.28
130910	379.33	101.52
130907	397.04	45.77
140102	391.29	38.54
140104	381.92	35.25
131208	364.14	65.48
Average	380.11	53.10

别为 327 nm 和 322 nm，两者波长相近，本文选取 324 nm 为检测波长，目标成分的响应值均较高。

金归洗液原标准中对绿原酸的提取较麻烦，需 2 次水浴蒸干，2 次转移，这必然引起成分的损失，本文对 50 % 甲醇、70 % 甲醇、纯甲醇及 50 % 乙醇、70 % 乙醇、95 % 乙醇进行考察，发现直接用 50 % 甲醇稀释可使绿原酸和蛇床子素均达到较好的提取效果，而且该方法简单易操作，有利于样品的快速检测。

本文在金归洗液原标准的基础上，增加蛇床子素为含量测定指标，并参考相关文献方法^[4-6]，建立了高效液相色谱法同时测定这两种成分的含量。结果表明，本法操作简便，重现性好，结果准确可靠，可作为金归洗液的质控标准。

参考文献：

[1] 国家食品药品监督管理局. WS-5148(B-0148)-2002[s].
[2] 刘益红, 周建军, 王晶, 等. HPLC 测定不同月份艾叶中绿原酸含量[J]. 陕西农业科学, 2012, 2012(1): 82-84.
[3] 周则卫, 沈秀. 蛇床子素药理活性的研究概况[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(20): 1726 - 1730.
[4] 黄彩虹, 雷鹏, 刘韶, 等. 高效液相色谱法同时测定蛇床子中蛇床子素和异茴芹素的含量[J]. 中南药学, 2009, 7(3): 171-174.
[5] 陈琴华, 胡文姬, 王众勤, 等. 反相高效液相色谱法测定洁尔阴洗液中蛇床子素的含量[J]. 药物鉴定, 2010, 19(19): 29-30.
[6] 范蕾, 蓝云龙, 余乐, 等. 不同产地金银花中绿原酸及木犀草苷的含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 172-175.

(编辑：邓响潮)