

HPLC法测定小儿咳喘灵口服液中绿原酸的含量

卢其亮¹,姜文侠^{2*}

(1. 天津市药品检验所,天津 300070 2. 天津市工业微生物研究所,天津 300221)

小儿咳喘灵口服液系卫生部药品标准^[1]收载的品种,由麻黄、金银花、苦杏仁、板蓝根、石膏、甘草、瓜蒌 7味中药组成,具有宣肺清热、止咳祛痰、平喘之功效,用于治疗小儿呼吸道感染、气管炎、肺炎、咳嗽等症。现标准中尚无该药相关有效成分的鉴别和含量测定方法。为控制产品质量,保证疗效,本实验对组方中主药之一金银花的主要疗效成分绿原酸的含量采用 HPLC法进行测定研究,该方法操作简便、准确、重现性好。

1 仪器与试剂

Waters 2487高效液相色谱仪,双波长检测器, Waters 515 HPLC泵, Waters 柱温箱, Shimadzu C-R6A处理机

绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所,批号: 0753-200111 其他试剂均为分析纯。小儿咳喘灵口服液来自天津凯辅药业有限公司,共 3批,批号: 20010301, 20010302, 20010303

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack ODS 柱 (250 mm× 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈-0.4%磷酸溶液 (11: 89), 检测波长: 327 nm, 柱温: 40℃, 流速: 1 mL/min 在此条件下,绿原酸与其他组份均可达到基线分离,理论板数按绿原酸计为 5 500

2.2 溶液的制备: 精密称取绿原酸对照品适量,加 50%甲醇制成 40 μ g/mL的对照品溶液。精密量取小儿咳喘灵口服液 2 mL,置 100 mL量瓶中,加 50%甲醇至刻度,摇匀,过滤。取续滤液,经 0.5 μ m有机相微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。同法,制得缺金银花的阴性对照液。色谱图见图 1

2.3 线性关系考察: 取绿原酸对照品,加 50%甲醇,分别制成 0.020, 0.040, 0.060, 0.080, 0.100 mg/mL的溶液,精密吸取 10 μ L,注入色谱仪进行分析。以绿原酸峰面积值为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y = -256.34 - 1605.2x$, $r = 0.9999$ 绿原酸在 0.200~ 1.000 μ g与峰面积之间呈良好的线性关系。

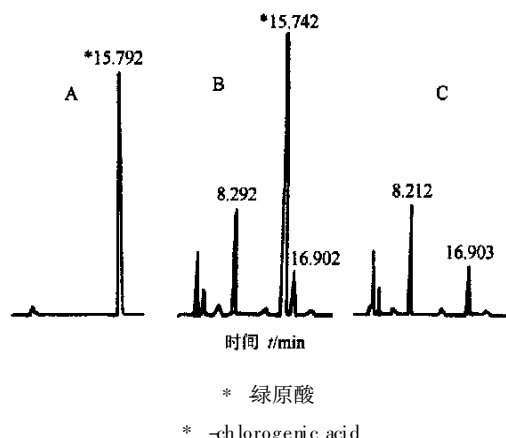


图 1 绿原酸对照品 (A) 供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of chlorogenic acid (A), sample (B) and blank (C)

2.4 精密度的试验: 同一供试品溶液,重复进样 5次,每次 10 μ L,测定吸收峰面积。结果绿原酸峰面积 $RSD = 1.32\%$ ($n = 5$)。

2.5 稳定性试验: 同一供试品溶液,每隔 2 h 进样 10 μ L,依法测定绿原酸峰面积值,结果其 $RSD = 1.35\%$ ($n = 11$)。可见供试品溶液在 20 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 精密量取同一批号样品 6份,照供试品溶液制备方法操作,进样,测定峰面积,计算绿原酸含量。结果绿原酸含量的 $RSD = 1.67\%$ ($n = 6$)。

2.7 加样回收试验: 精密量取已知含量的小儿咳喘灵口服液样品 (批号 20010301) 1 mL,共 6份,精确加入绿原酸对照品溶液适量,按供试品制备方法处理后,测定绿原酸含量,计算回收率。结果绿原酸平均回收率为 99.60%, $RSD = 0.96\%$ ($n = 6$)。

2.8 样品测定: 精密量取不同批号的小儿咳喘灵口服液样品,按供试品溶液制备方法制备,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,进样分析,以外标法计算绿原酸含量。结果绿原酸含量分别为 2.031 (20010301), 2.125 (20010302), 2.130 mg/mL (20010303) ($n = 2$)。

3 讨论

在本实验条件下,绿原酸的保留时间为 15.7 min左右,分离效果好,达到基线分离,且在 25 min内即可分离完毕。若流动相选用乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)^[2],绿原酸的保留时间在 7 min左右,但样品主峰与其相邻峰达不到良好的分离。

本方法简便、准确,样品不需要经过前处理,直

接加入 50%甲醇定容即可测定。本方法可以作为小儿咳喘灵口服液的质量控制检测方法。

References

- [1] *Drug Specification Promulgated by the Ministry of Public Health, P. R. China — Preparation of Chinese Patent Medicine* (中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂) [S]. VolIV. 1991.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. VolI .

HPLC法测定好利康中白藜芦醇的含量

贾淑杰,曲树明,张 蓉,王振立*

(天津市医药科学研究所,天津 300070)

白藜芦醇(resveratrol)是一种天然活性成分,目前至少已在 21科 31个属的 72种植物中发现它的存在,常见的药用植物如决明、藜芦、虎杖等,水果如葡萄中也含有白藜芦醇。其具有抗癌、降压、调血脂、抑制花生四烯酸、APP、Ca²⁺诱导的兔血小板聚集和血栓素 B₂(TXB₂)的产生,也具有抗细菌和抗真菌作用,在心血管疾病和癌症的防治上具有良好的应用前景^[1]。功能食品好利康用于心脑血管的保健,其主要成分为白藜芦醇。随着功能食品逐渐被人们接受,其内在质量控制变得十分必要。本实验参考有关文献^[2],采用 HPLC法对功能食品好利康中白藜芦醇进行了含量测定,其结果准确度高、重现性好、操作性强,可用于该产品的质量控制。

1 仪器与试药

岛津 LC-10A高效液相色谱仪,SPD-10Avp紫外检测器,C-R8A积分仪;AE-240电子分析天平(瑞士梅特勒)。白藜芦醇对照品(由上海医科大学天然药物室提供,含量测定用,纯度 98.2%)。水为重蒸馏水,乙腈、甲醇为色谱纯。

2 方法及结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Hypersil ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5μm);流动相:乙腈-水(35:65);检测波长:306 nm;柱温:室温;流速:0.6 mL/min。理论塔板数以白藜芦醇峰计不低于 2 500。

2.2 标准曲线的制备:精密称取白藜芦醇对照品约 5 mg,置 100 mL棕色量瓶中,加无水甲醇,溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取此溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL,置 25 mL棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度,

摇匀,进样 10μL。以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标绘制标准曲线。结果表明,峰面积和浓度呈良好线性关系,回归方程为 $Y = 5.4735 \times 10^5 X - 3.0487$, $r = 0.9996$ 。线性范围为 0.02~0.1μg。

2.3 样品溶液的制备:取好利康 0.35 g,精密称定,置 50 mL具塞三角瓶中,加 10 mL水浸泡 2 h,滤过,滤液加乙酸乙酯萃取 2次,每次 10 mL,合并萃取液;滤渣加乙酸乙酯 20 mL,浸泡 2 h,滤过,得滤液。合并以上溶液,精密吸取 20 mL减压回收乙酸乙酯,加无水甲醇溶解于 10 mL棕色量瓶中,以流动相定容至刻度,摇匀,过滤,即得。

2.4 精密度考察:取同一供试品,按上述色谱条件连续进样 5次,分别进样 10μL,测得白藜芦醇峰面积的 RSD为 0.32% ($n = 5$)。

2.5 稳定性考察:取同一供试品,按样品制备方法制成供试品液,于 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 h分别进样 10μL,测白藜芦醇峰面积,其 RSD为 0.46% ($n = 5$)。

2.6 重现性的考察:取批号 210601样品,按样品制备方法制备成供试液,平行制备 5份,分别进样 10μL,得白藜芦醇的峰面积的 RSD为 0.98% ($n = 5$)。

2.7 回收率测定:在已知含量样品溶液中,精密加入白藜芦醇对照品溶液(约为已知样品含量的 80%, 100%, 120%),配成供试品液。再分别按上述色谱条件测定含量,计算回收率。结果平均回收率为 98.06%, RSD为 1.98% ($n = 6$)。

2.8 样品测定:将不同批号的样品按样品制备方法制成供试品溶液,将供试品及对照品分别进样 10μL,记录峰面积,按外标法计算含量。结果见表 1。色

* 收稿日期: 2002-10-29

作者简介:贾淑杰(1964-),女,主管技师,1986年毕业于天津医科大学药系,主要从事中药和天然药物及其制剂的成分分析。