

RP-HPLC法测定金银花糖浆中绿原酸的含量

喻贵英¹,潘宏春²,刘红梅¹,郭平牯¹

(1. 重庆桐君阁药厂 理化检测室,重庆 400066 2. 重庆桐君阁药厂中药研究所,重庆 400066)

金银花糖浆由金银花和忍冬藤煎制而成。绿原酸为金银花糖浆中的主要抗菌消炎成分。标准中仅对药材进行了定性鉴别,而无有效成分的含量测定。为了有效地控制产品质量,本实验参考文献^[1-3],采用 HPLC法测定该制剂中有效成分绿原酸的含量,方法简便、快速,结果满意。

1 仪器与试剂

HPLC 1050(美国惠普公司),UV-2501PC(日本岛津),绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所),金银花糖浆(重庆桐君阁药厂提供)试剂除乙腈为色谱纯外其他均为分析纯。

2 实验部分

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromail C₈柱(5 μ m, 100 mm \times 4.6 mm)(惠普公司);检测波长:327 nm;流动相:乙腈-0.4%磷酸水溶液(13:87);流速:1.0 mL/min;柱温:室温;进样量:10 μ L。色谱图见图 1。

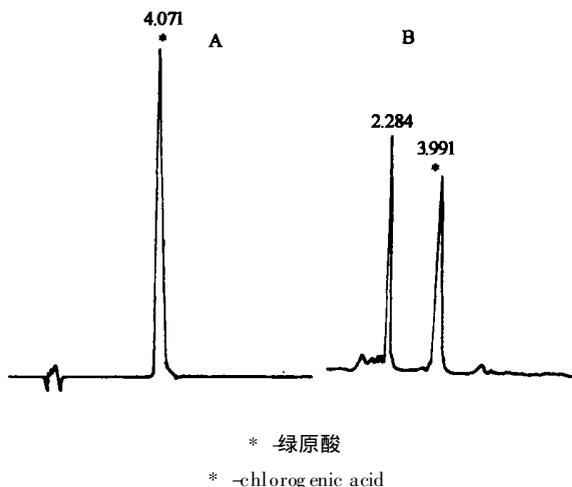


图 1 绿原酸对照品(A)和金银花糖浆样品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of chlorogenic acid (A) and *Flos Lonicerae* Syrup (B)

2.2 对照品溶液的配制:精密称取低温真空干燥至恒重的绿原酸对照品适量,用 50% 甲醇溶液定容于 10 mL 的容量瓶中,配成 0.566 mg/mL 的贮备液。

精密吸取贮备液 1 mL,用 50% 甲醇溶液定容于 10 mL 容量瓶,配成 0.0566 mg/mL 的对照品溶液。

2.3 测定波长的选择:取对照品溶液适量,在 200~600 nm 波长进行紫外扫描,绿原酸在 327 nm 波长处有特征吸收,故选择 327 nm 作为检测波长,光谱图见图 2。

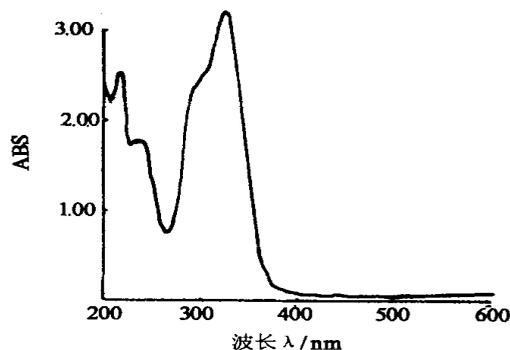


图 2 绿原酸的紫外光谱图

Fig. 2 UV spectra of chlorogenic acid

2.4 线性考察:精密量取上述对照品溶液,分别进样 2, 4, 8, 12, 16 μ L 测定,并以峰面积为纵坐标,进样体积为横坐标进行线性回归,得回归方程: $Y = 14823.9X - 2796.8$, $r = 0.9998$ 。结果表明,绿原酸在 0.1132~0.9056 mg 与其色谱峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取上述对照品溶液 2, 8, 16 μ L 照上述色谱条件,各连续重复进样 5 次,测得绿原酸峰面积的 RSD 分别为 0.74%, 0.11%, 0.70% ($n = 5$)。

2.6 重现性试验:取样品,精密量取 5 份,按“样品的测定”项下方法测定绿原酸含量,计算得其 RSD 为 1.27% ($n = 5$)。

2.7 稳定性试验:分别吸取上述对照品溶液和同一供试品溶液,按照上述色谱条件,2 h 测定 1 次,连续测定 5 次。在 8 h 内对照品溶液峰面积积分值 RSD 为 0.14% ($n = 5$),供试品溶液峰面积积分值 RSD 为 0.10% ($n = 5$)。结果表明 8 h 内基本一致。

2.8 加样回收率试验:精密吸取已测得绿原酸含量的样品 1 mL,加入 0.566 mg/mL绿原酸对照品贮备液 1 mL,按“样品的测定”项下的方法,在上述色谱条件下进行含量测定,计算回收率。结果平均回收率为 97.96%,RSD为 1.76% (n= 6)

2.9 样品的测定:精密吸取样品 1 mL于 50 mL容量瓶中,用 5% 甲醇稀释至刻度,摇匀,放置 5 min,滤过,弃去初滤液,取续滤液 1 mL,离心 10 min,进样 10 μ L,用回归方程计算绿原酸含量,结果见表 1

表 1 金银花糖浆中绿原酸的测定结果 (n= 5)

Table 1 Chlorogenic acid in *Flos Lonicerae* Syrup (n= 5)

批号	绿原酸 / (mg \cdot mL $^{-1}$)	RSD / %
010518031	1.935	1.05
010519032	2.017	0.93
010520033	1.821	2.10
010521034	2.236	1.74
010522035	2.124	1.29

3 讨论

3.1 绿原酸为含有羧基和邻二酚羟基的极性有机

酸,易溶于水和甲醇。实验中分别以甲醇和水为溶剂,结果显示,用水做溶剂,对绿原酸峰有影响;用甲醇做溶剂时,绿原酸不稳定;而采用 5% 甲醇水溶液效果较佳

3.2 曾分别选用甲醇-水-冰醋酸、甲醇-10%磷酸氢二钠溶液 (pH2.7)、乙腈-0.4%磷酸溶液。结果以乙腈-0.4%磷酸溶液为最佳,绿原酸与相邻峰基线分离较好。

3.3 含量测定结果表明,各批样品中绿原酸含量有一定差异,作为质量控制绿原酸含量应不低于 1.20 mg/mL。但工艺过程中也应该严格控制绿原酸的含量

References

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I .
 [2] Yu S L, Zhang L, Sun L. Research progress of *Flos Lonicerae* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2002, 13(8): 498-500.
 [3] Guo Y Z, Liao C Z, Zhai X F, et al. Study on quality standard for Jinyinhua Recipe Granule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(6): 423-425.

HPLC法测定金宝片中橙皮苷的含量

戚宝婵

(辽宁省药品检验所,辽宁 沈阳 110023)

金宝片由陈皮、太子参、山药等 10味中药组成,为中药保健品,具有理气健脾、燥湿化痰、止咳平喘之功效。为了更好地控制产品质量,本实验采用 HPLC法测定金宝片中橙皮苷的含量。经方法学考察,数据可靠,方法可行,可用于控制产品质量

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪, Waters 515 泵, Waters 2487 检测器,大连依特利色谱工作站。橙皮苷对照品购自中国药品生物制品检定所,批号为 0721-200010。金宝片由辽宁天龙药业有限公司提供,批号为 000701

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:取本品 10片,研细,取 3 g,精密称定,加水 10 mL 溶解,加乙醚振摇,超声提取 2次,每次加乙醚 20 mL,超声 15 min,放置分层,弃去乙醚液,水层挥干乙醚,加醋酸乙酯振摇,超声

提取 4次,每次加醋酸乙酯 20 mL,超声 15 min,放置分层,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲酰胺溶解,并转移至 10 mL 量瓶中,加甲酰胺至刻度,摇匀,即得。

2.2 色谱条件:色谱柱为迪马 C₁₈柱 (20 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),流动相为甲醇-水 (45:55),检测波长为 283 nm,进样量为 10 μ L。在此条件下橙皮苷与其他成分达到基线分离。

2.3 线性关系考察:取橙皮苷对照品,加甲酰胺溶解制成 0.100 3 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取该溶液 3, 6, 9, 12, 15 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以进样量为横坐标,峰面积值为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $A = 30868.24C + 76.55$, $r = 0.9996$ 。结果表明进样量在 0.300 9~ 1.504 5 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。标准曲线基本通过原点,采用一点法测定。

收稿日期: 2002-12-23

作者简介:戚宝婵 (1963-),女,山东济宁人,副主任药师,1986年毕业于沈阳药学院,从事中药材、中成药检验及质量标准研究工作,发表论文 10余篇。Tel (024) 25425645