

品溶液,加入绿原酸对照品约 24.6 ng,按 2.2 项下方法操作,进样 5 μL 测定,结果平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.12% ($n=5$)。

2.8 样品含量测定:按 2.2 项下方法操作,结果见表 1。

表 1 复方利咽宁口服液中绿原酸含量 ($n=5$)
Table 1 Content of chlorogenic acid in Compound Liyanning Oral Liquid ($n=5$)

| 批号 | 绿原酸含量/(ng · mL ⁻¹) | RSD/% |
|----------|--------------------------------|-------|
| 20010124 | 0.312 | 2.01 |
| 20010312 | 0.326 | 1.76 |
| 20010425 | 0.341 | 0.87 |
| 20010608 | 0.309 | 1.26 |
| 20010821 | 0.324 | 0.97 |

2.9 长期稳定性考察:采用留样室温观察法。取批号为 20010425 的复方利咽宁口服液,置室温下保存 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 个月,分别取样测定,结果和 pH 值测定结果见表 2。

表 2 稳定性测定结果 ($n=5$)

Table 2 Result of stability ($n=5$)

| 时间/月 | 绿原酸含量/(ng · mL ⁻¹) | pH |
|------|--------------------------------|------|
| 0 | 0.342 | 5.63 |
| 3 | 0.340 | 5.67 |
| 6 | 0.336 | 5.73 |
| 9 | 0.331 | 5.65 |
| 12 | 0.330 | 5.74 |
| 15 | 0.327 | 5.69 |
| 18 | 0.314 | 5.69 |

3 讨论

在实验中,采用甲醇-醋酸-水、甲醇-乙腈-醋酸-水不同比例分离,但效果不佳,以乙腈-1% 醋酸(9:1) 做流动相,分离效果很好。

复方利咽宁口服液在室温条件下存放 1.5 年,绿原酸含量有所下降,但仍在质量控制标准内,故可以认为复方利咽宁口服液在 1.5 年内性质基本符合质量要求。

分光光度法测定茶多酚注射剂中茶多酚的含量

杨美燕,李楠*,邢国秀,郭永学,宫为民*
(大连理工大学化工学院,辽宁 大连 116012)

茶多酚(tea polyphenols)是茶叶中含有的多酚类物质的总称,因其分子结构中含有较多的还原性酚羟基而具有很强的清除体内自由基的功能。将茶多酚研制成静脉注射剂,在抢救心脑血管重症方面有重要意义。茶多酚含量测定方法有多种,如酒石酸亚铁分光光度法^[1]。采用 Al³⁺ 作为络合离子的分光光度法针对注射剂进行分析,目前国内尚未见报道。本实验采用的方法基于注射剂中的茶多酚和 Al(NO₃)₃ 发生亚硝酰化络合,络合产物在碱性条件下显橙红色,在一定浓度范围内,吸光度和茶多酚浓度呈线性关系,从而可以进行定量测定。

1 仪器与试剂

722 光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂);儿茶素对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所提供,批号:877-20001);茶多酚注射剂由本课题组自制,为高纯度茶多酚经助溶剂助溶而成的澄清透明溶液,标示量为 25 mg/mL;水为去离子水,

试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 儿茶素对照品溶液的制备:取儿茶素对照品 21.0 mg,用少量无水乙醇溶解并稀释至 50 mL,得 0.42 mg/mL 儿茶素对照品溶液,备用。

2.2 供试品溶液的制备:取 0.25 mL 注射剂,置于 25 mL 量瓶中,加水至刻度,备用。

2.3 测定:移取供试品溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中,先加适量 5% NaNO₂ 溶液,摇匀,放置 6 min,加适量 10% Al(NO₃)₃ 溶液,摇匀,放置 6 min,加适量 4% NaOH 溶液,用水稀释至刻度,摇匀。在一定波长处,以水为参比测定吸光度。

3 实验结果

3.1 分析条件的选择

3.1.1 吸收波长的选择:以水为参比,在 400~700 nm 波长内测量络合物的吸光度,作络合物吸收曲线。结果在 470~490 nm 波长吸光度变化平缓,波

* 收稿日期:2003-07-14

基金项目:大连市 2002 年科技计划资助项目(2002B4NS044)

作者简介:杨美燕(1979—),女,山东滕州市人,1999 年毕业于山东轻工业学院,现为大连理工大学 2001 级在读硕士,研究方向为天然生物活性物质的分离与分析。Tel: (0411) 84701085 E-mail: ymyzi@163.com

* 通讯作者 Tel: (0411) 83683309 E-mail: nanli@mail.dlptt.ln.cn

长超过 500 nm 后,吸光度值急剧下降。为减小实验误差和获得较高的灵敏度,选取 490 nm 作为测定波长。

3.1.2 显色剂用量的影响:实验操作方法基本同上,固定 5% NaNO_2 溶液和 4% NaOH 溶液的体积分别为 0.40 mL 和 4 mL,加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液的量分别为 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 mL。结果表明,在其他条件相同的情况下,吸光度值随 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液加入量的增加而增大,但当 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液的加入量大于 0.40 mL 时,溶液中悬浮物出现,影响测定,故本实验条件下确定 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液的加入量为 0.40 mL。

3.1.3 溶液酸碱度的影响:实验操作方法基本同上,固定 5% NaNO_2 溶液和 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液的体积均为 0.40 mL 和 0.40 mL,加入 4% NaOH 溶液的量分别为 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mL。结果表明, NaOH 溶液的加入量在 3.00 ~ 4.00 mL 时,吸光度值较大且变化平缓,故本实验条件下采用 NaOH 溶液的适宜加入量为 4 mL。

3.1.4 显色时间的选择:由吸光度对显色时间的关系曲线可得,显色后溶液的吸光度值有下降趋势,在 50 min 内,计算吸光度值的 $\text{RSD} < 1\%$,故规定测量在 50 min 内完成。

3.2 标准曲线的制备:取儿茶素对照品溶液 0.00, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60 mL,分别置 10 mL 量瓶中,按 3.1 项下方法进行显色反应,以试剂空白作参比,求得线性回归方程为 $A = 32.103 C + 0.0033$, $r = 0.9996$,线性范围 0.0042 ~ 0.0252 mg/mL。

3.3 重现性试验:取一份样品,进行 6 次平行测定,结果吸光度值的 RSD 为 0.91%。

3.4 回收率试验:采用加样回收法。在茶多酚量为 0.059 mg 的样品溶液中加入儿茶素对照品 0.1196

($n = 3$)、0.1380 ($n = 4$) 和 0.1564 mg ($n = 3$),按 3.2 项下的方法进行。结果平均回收率为 99.95%, RSD 为 0.93% ($n = 10$)。

3.5 样品分析:取 3 个批号的注射剂,分别制备供试品溶液,依法测定吸光度值,代入标准曲线的回归方程,换算成以儿茶素计的样品中茶多酚含量。结果见表 1。

表 1 茶多酚注射剂中茶多酚的含量测定结果 ($n = 6$)

Table 1 Content of tea polyphenols in Tea Polyphenols Injection ($n = 6$)

| 批号 | 茶多酚/(mg · mL ⁻¹) |
|--------|------------------------------|
| 020805 | 13.7 |
| 030308 | 11.0 |
| 991223 | 2.4 |

4 讨论

实验过程中发现,加入 NaOH 溶液一方面是为了调节 pH,使茶多酚和 Al^{3+} 的络合物在碱性条件下进一步醌式化,产物显橙红色。另一方面,为使络合反应进行完全,还应加入适当过量的 Al^{3+} ,因为 Al^{3+} 具有两性离子的特征,其碱性条件下水解产物 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 易干扰测定,为解决此问题,溶液中还应保持适当过量 OH^- ,使过量的 Al^{3+} 以无色透明的 $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ 存在。

NaNO_2 存在下用 Al^{3+} 作为络合离子在碱性条件下显色的方法目前主要用于以芦丁为代表的黄酮类物质的含量测定。本法产物最终形成五元螯环结构,是邻二酚羟基的专属性反应。茶多酚的主体及主要生理活性成分儿茶素类的 6 种单体均具有邻二酚羟基,所以,用此法定量专属性好。而且,和基于酚羟基还原性的高锰酸钾滴定法^[2]相比,本方法具有更高的选择性。

References:

- [1] GB 8317-87 [S]. 1992.
- [2] Yu T. Natural TP with great developed future [J]. *Guangxi Light Ind* (广西轻工业), 1996 (3): 6-11.

HPLC 法测定复方五味子软胶囊中五味子甲素的含量

陈光龙*

(深圳市宝发区人民医院,广东 深圳 518101)

复方五味子软胶囊是由五味子、远志、柏子仁等经超临界流体萃取制成的制剂。主要药味五味子具

有上敛肺气、下滋肾阴兼有补肾宁心之功效,对中枢神经系统有双向调节作用,与远志、柏子仁等味药配