

RP-HPLC测定返魂草颗粒中绿原酸和咖啡酸含量

刘艳清, 汪洪武, 鲁湘鄂

(肇庆学院轻工化学系, 广东 肇庆 526061)

关键词: 反相高效液相色谱法; 返魂草颗粒; 绿原酸; 咖啡酸

摘要: 目的: 建立返魂草颗粒(返魂草)绿原酸和咖啡酸的反相高效液相色谱分析方法。方法: Eclipse XDB-C₁₈柱, 乙腈-0.4%磷酸(12:88, V/V)为流动相, 柱温: 室温, 于 327 nm 测定返魂草颗粒中的绿原酸和咖啡酸。结果: 绿原酸在 0.005 6~0.896 μg/L, 咖啡酸在 0.012 5~0.1 μg/L内线性关系良好, 平均回收率分别为 100.1%、99.8%。结论: 该法简便、准确、无干扰, 可用于测定返魂草颗粒中绿原酸和咖啡酸含量。

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2007)10-1451-03

Determination of chlorogenic acid and caffeic acid in Fanhuncao Granule by RP-HPLC

LU Yan-qiang WANG Hong-wu LU Xiang-e

(Department of Light Industry & Chemistry, Zhaoqing College, Zhaoqing 526061, China)

KEY WORDS RP-HPLC; Fanhuncao Granule; chlorogenic acid; caffeic acid

ABSTRACT **AM:** To develop a reversed-phase high performance liquid chromatographic method for determining chlorogenic acid and caffeic acid in Fanhuncao Granule (*Senecio cannabifolius* Less). **METHODS** The operation was carried out on Eclipse XDB-C₁₈ column with the mobile phase consisting of a mixture of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (12:88, V/V). The flow rate of 1.0 mL/min and UV detection wavelength at 327 nm were set to determine the contents of chlorogenic acid and caffeic acid. **RESULTS** There was good linear relationship between the concentrations and the peak-areas of chlorogenic acid and caffeic acid. The two kinds of standard solutions were both stable in 16 h (*RSD* = 1.55% for chlorogenic acid, 1.11% for caffeic acid). The average recovery was 100.1% and 99.8% for chlorogenic acid and caffeic acid, respectively. **CONCLUSION:** The method is simple, sensitive, rapid and accurate, and can be used for the quality control of Fanhuncao Granule.

返魂草颗粒是以返魂草 (*Senecio cannabifolius* Less)为原料经精制而成的纯中药制剂, 具有清热祛痰、镇咳平喘等功效^[1], 其主要活性成分为绿原酸(chlorogenic acid)和咖啡酸(caffeic acid)^[2]。王继彦等人^[3]利用 HPLC对返魂草及其注射剂中绿原酸的含量进行了测定, 但尚未见同时测定返魂草颗粒中绿原酸和咖啡酸。为了有效地控制返魂草颗粒的质量, 本实验采用反相高效液相色谱法同时测定了绿原酸和咖啡酸的含量, 样品不需要特殊处理, 具有简洁、准确、无干扰的特点。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国安捷伦 LC-1200高效液相色谱系统; 安捷伦 Chem Station 色谱工作站; SK 8200H 台式超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); 绿原酸、咖啡酸(供含量测定用, 中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯(J.T. Baker公司), 磷酸(分析纯, 天津福晨化学试剂厂); 甲醇(分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 其他试剂为分析纯, 所用水为双蒸水。返魂草颗粒(吉林华康药业股份有限公司, 批号 060910)。

1.2 色谱条件

收稿日期: 2006-09-20

基金项目: 肇庆市科技创新项目(2006G21); 肇庆学院科研基金资助项目(0643)

作者简介: 刘艳清(1973~), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物化学、色谱分析, 电话: 0758-2716357, E-mail: yqli@zqu.edu.cn

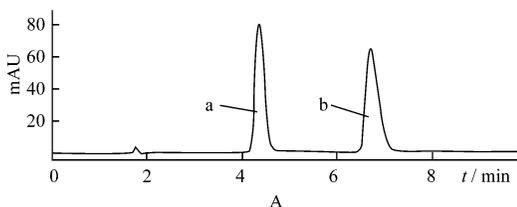
色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.4%磷酸 (12:88 V/V) 为流动相, 检测波长: 327 nm, 流速: 1 mL/min, 柱温: 室温, 进样量: 20 μL。

1.3 实验方法

1.3.1 对照品溶液制备

精密称取经减压干燥 (50 °C) 至恒重的绿原酸对照品 5.6 mg 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 112 mg/L 的绿原酸对照品溶液。精密称取咖啡酸对照品 2.5 mg 置于 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 25 mg/L 的咖啡酸对照品溶液。

1.3.2 样品溶液制备



精密称取本品颗粒约 2.5 g 加入适量 50% 甲醇溶解, 超声处理 30 min, 取出, 冷却到室温后再用 50% 甲醇定容到 50 mL。摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤即得样品溶液。

2 结果与讨论

2.1 系统适用性试验

分别吸取 11.2 mg/L 绿原酸, 2.5 mg/L 咖啡酸对照品溶液、样品液 20 μL 在 HPLC 上进样分析, 记录色谱图见图 1。对比保留时间可知峰 a 为绿原酸, 峰 b 为咖啡酸, 经计算其理论塔板数分别为 1076 和 16516 二者的分离度为 4.98 二者分离较好, 表明可对二者同时定量分析。

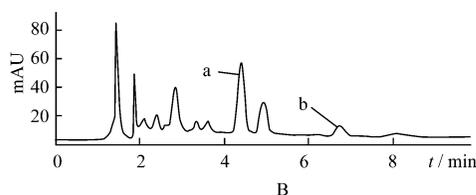


图 1 高效液相色谱图

A 对照品 B 样品 a 绿原酸 b 咖啡酸

2.2 线性关系

精密量取 112 mg/L 绿原酸对照品溶液和 25 mg/L 咖啡酸对照品溶液, 置 10 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 摇匀。分别精密取上述对照品溶液 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 mL 用 50% 甲醇定容到 10 mL。吸取上述对照品溶液 20 μL, 在 HPLC 仪上均进样 2 次, 记录色谱图。以平均峰面积 A 对浓度 C (mg/L) 回归, 得绿原酸与咖啡酸标准曲线回归方程分别为: $A = 5.0367C - 38.738 (r = 0.9997)$ 、 $A = 3.8901C - 0.8073 (r = 0.9993)$ 。

绿原酸和咖啡酸分别 0.0056~0.0896 mg/L、0.00125~0.01 mg/L 在范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 精密度试验

精密吸取 11.2 mg/L 绿原酸对照品溶液和 5.6 mg/L 咖啡酸对照品溶液各 20 μL, 在 HPLC 上连续进样 5 次, 记录色谱图, 结果峰面积 RSD 分别为 0.52% 和 1.63%, 表明进样精密度合格。

2.4 稳定性试验

分别在 0, 2, 4, 6, 8, 16 h 内测定 11.2 mg/L 绿原酸对照品溶液, 结果峰面积 RSD 为 1.55%, 表明绿原酸对照品溶液在 16 h 内稳定。在 0~24 h 内测定 5.6 mg/L 咖啡酸对照品溶液, 其峰面积 RSD 为

1.11%, 表明咖啡酸对照品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 重复性试验

取批号 060910 样品, 按 1.3.2 项制备 5 份供试液, 吸取 20 μL 进样分析 2 次, 记录色谱图, 以平均峰面积按标准曲线法计算, 测得绿原酸和咖啡酸含量分别为 89.99 μg/g (RSD = 0.62%, n = 5), 24.76 μg/g (RSD = 1.43%, n = 5), 表明进样精密度合格。

2.6 回收率试验

精密量取本品 1.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 分别精密加入表 1 所示绿原酸和咖啡酸对照品溶液量, 加 50% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 作供试液。吸取 20 μL 进样分析 2 次, 记录色谱图, 以平均峰面积按表 1 绿原酸和咖啡酸的回收率

Table 1 Recoveries of chlorogenic acid and caffeic acid (n = 9)

加入绿原酸 / μg	测得绿原酸总量 / μg	回收率 / %	加入咖啡酸 / μg	测得咖啡酸总量 / μg	回收率 / %
100	197.6	100.0	10.0	34.5	101.0
99.1	196.8	100.1	9.9	34.4	99.0
101	198.6	100.0	11.0	35.5	99.1
198	295.6	100.5	20.6	45.1	99.5
201	298.6	100.5	21.1	45.6	99.6
204	301.6	100.0	19.9	44.4	100.5
295	392.6	99.5	30.6	55.1	100.3
301	398.6	99.7	30.8	55.3	99.4
298	395.6	100.3	31.2	55.7	99.7

准曲线法计算,测得绿原酸和咖啡酸平均回收率分别为 100.1% ($RSD = 0.10\%$), 99.8% ($RSD = 0.40\%$), 见表 1。

2.7 样品含量测定

精密称取返魂草颗粒 5份,加 50% 甲醇定容至刻度,混匀。精密量取 1.0 mL,置 50 mL量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀作供试液。精密吸取 20 μ L进样分析 3次,记录色谱图,以平均峰面积按标准曲线法计算样品中绿原酸与咖啡酸含量。重复试验 3次,样品测定结果见表 2。

表 2 绿原酸和咖啡酸含量

Table 2 The contents of chlorogenic acid and caffeic acid

序号	绿原酸 / μ g/g	咖啡酸 / μ g/g
1	98.70	24.45
2	87.89	26.76
3	90.20	24.13
4	96.26	23.18
5	89.37	25.17
平均	92.48	24.74

3 讨论

RP-HPLC同时测定复方沙棘籽油栓中蛇床子素和欧前胡素的含量

李小安, 张军科, 史美佳, 侯亚兰
(陕西海天制药有限公司, 陕西 咸阳 712000)

关键词: RP-HPLC; 复方沙棘籽油栓; 蛇床子素; 欧前胡素

摘要: 目的: 建立 RP-HPLC法同时测定复方沙棘籽油栓(沙棘籽油, 蛇床子, 苦参等)中蛇床子素和欧前胡素的含量的方法。方法: 色谱柱为 Phenomenex(Luna) C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流动相为 甲醇-水 (65:35), 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 310 nm。结果: 蛇床子素和欧前胡素分别在 0.051~0.816 μ g ($r = 0.9996$) 和 0.026~0.416 μ g ($r = 0.9998$) 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 98.4% 和 97.6%, RSD 分别为 1.4% ($n = 6$) 和 2.0% ($n = 6$)。结论: 本法简便、结果准确、重现性好, 可用于复方沙棘籽油栓中蛇床子素和欧前胡素的含量测定。

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-1528(2007)10-1453-03

Determination of osthole and imperatorin in Compound Shajiziyou Suppository by RP-HPLC

LIXiao-an, ZHANG Jun-ke, SHIMe-r-jia, HOU Ya-lan
(Haitian Pharmaceutical Company Ltd., Xiayang 712000, Shangxi, China)

KEY WORDS RP-HPLC; Compound Shajiziyou Suppository; osthole; imperatorin

ABSTRACT: AM: To develop a HPLC method of determining osthole and imperatorin in Compound Shajiziyou

收稿日期: 2006-09-20

作者简介: 李小安 (1979~), 男, 助理工程师, 从事中药制剂质量标准研究, 电话: 029-33810048, E-mail: lx810728@56.com.

由于绿原酸和咖啡酸有抗病毒和广泛的抗菌消炎作用,它们同时存在于返魂草中。返魂草具有清热解毒、宣肺化痰等功效与含此二组分有密切关系,因此控制返魂草颗粒中绿原酸和咖啡酸含量具有重要意义。本实验考察了使用另外 2种流动相系统进行实验,结果绿原酸和咖啡酸峰不产生变形,证明是单峰。在本实验条件下测得色谱图基线平直,方法学研究表明此法简便、准确,可用于控制返魂草颗粒质量。

参考文献:

- [1] 崔静莲,付艳敏,王丹玉,等. 乙醚质量影响返魂草冲剂 TLC的鉴别 [J]. 中国药品标准, 2004, 5(2): 28, 39.
- [2] 李丽静,王继彦,王岩,等. 返魂草提取物及其有效成分抗病毒作用的研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(8): 585-587.
- [3] 王继彦,李丽静,张莲珠. HPLC法测定返魂草及其注射剂中绿原酸 [J]. 中草药, 2005, 36(8): 1166-1167.