

(1. Department of Pharmaceutics, Weifang Medical University, Weifang 261042, China;

2. Department of Pharmacy, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha 41007, China)

**[Abstract] Objective:** To study the relation between relative density and kinematical viscosity of the concentration for Yuxianling granules **Method:** The relative density and kinematical viscosity by alkali burette of the concentration were investigated. The connection between kinematical viscosity and spray drying, also and temperature of the concentration was respected. In the meantime, different mathematical models were simulated. **Result:** Kinematical viscosity is susceptible than relative density to the effect for spray drying, and the mathematical model is also set up accordingly. The result can offer the proper inlet temperature and kinematical viscosity for spray drying. **Conclusion:** The method in the experiment is simple, practical and manipulate easily. The study will provide the basis for extracted solution of compression and spray drying.

**[Key words]** Yuxianling granules; relative density; viscosity; kinematical viscosity; mathematical model

[责任编辑 鲍雷]

## 金银花提取液中绿原酸的快速定量

李娜, 高晓燕, 范强, 乔延江\*

(北京中医药大学 中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的:建立金银花提取液中绿原酸的快速含量测定方法。方法:采用反相高效液相色谱法测定金银花提取液中绿原酸的含量,同时测定样品的紫外光谱,选择和高效液相测得绿原酸含量相关性最佳的波长点,建立绿原酸含量的紫外预测方程,并另取 11 批金银花提取液对预测方程进行检验。结果:高效液相色谱法测定绿原酸在 0.09~2.25  $\mu\text{g}$  线性关系良好;加样回收率为 100.4%,精密度为 1.1% ( $n=5$ )。紫外光谱中和绿原酸含量相关性最佳的波长点为 294 nm,绿原酸质量浓度 ( $C, \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 与 294 nm 下的吸光度 ( $A$ ) 相关方程  $C = 2.703425A - 0.12918$  ( $r=0.9929, n=19$ );绿原酸含量测定值和预测值之间具有良好的相关性 ( $r=0.9952, n=11$ ),方法精密度为 0.2% ( $n=6$ )。结论:该方法检测金银花提取液中绿原酸含量简捷、快速、准确,可用于金银花提取液的快速质量控制。

**[关键词]** 金银花提取液;绿原酸;高效液相色谱;紫外光谱

**[中图分类号]** R 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5302(2007)04-0312-03

清开灵注射液处方由胆酸、黄芩苷和金银花等 8 味药组成。其中金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花,具有清热解毒、凉散风热之功效<sup>[1]</sup>,在清开灵注射液的生产过程中以药材水提取液的形式入药,据报道其主要有效成分为绿原酸<sup>[2]</sup>。本研究建立了金银花提取液中绿原酸含量的 UV 快速测定方法,经 HPLC 检验,该方法准确、快速、方便,可用于清开灵注射液生产过程中金银花提取液的在线质量控制。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪:四元泵、真空脱气泵、自动进样器、柱温箱、DAD 二极管阵列检测器、HP 数据处理工作站。HP-8453 紫外-可见分光光度仪。

绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110753-200212);配制清开灵注射液的金银花提取液由指定药厂提供。甲醇为色谱纯,购自 Fisher 公司,甲酸为分析纯,购自北京化学试剂厂,水为去离子水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 高效液相色谱法

##### 2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱

**[收稿日期]** 2005-09-22

**[基金项目]** 北京市科委项目 (H030230170130)

**[通讯作者]** \* 乔延江, Tel: (010) 84738601, E-mail: yjqiao@

263.net

· 312 ·

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水-甲酸 (20:80:0.08); 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长 330 nm; 柱温 30 °。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取绿原酸对照品 4.5 mg 置于 25 mL 的量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密移取药厂生产线提供的金银花提取液, 用水稀释至 250, 500, 1 000 倍。

**2.1.4 线性关系考察** 精密移取绿原酸储备液, 用水稀释至 0.045 mg · mL<sup>-1</sup>。依次进样 2, 4, 8, 15, 25, 35, 50 μL, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积  $Y$  对进样量  $X$  (μg) 算得回归方程为  $Y = 2\,256.77X + 2.22$ ,  $r = 0.999\,9$  ( $n = 7$ )。结果表明在 0.09 ~ 2.25 μg 具有较好的线性关系。

**2.1.5 精密度试验** 精密移取绿原酸储备液, 用水稀释至 0.045 mg · mL<sup>-1</sup>。重复进样 5 次, 每次 50 μL, 按上述色谱条件测定绿原酸峰面积, RSD 为 1.1% ( $n = 5$ )。

**2.1.6 重复性试验** 取金银花液样品 6 份 (批号 5115), 用水稀释 500 倍, 依次进样 50 μL, 按上述色谱条件测定绿原酸峰面积, RSD 为 1.4% ( $n = 6$ )。

**2.1.7 稳定性试验** 取稀释 500 倍的金银花液 (批号 5115), 每隔 2 h 连续进样 24 h, 每次进样 50 μL, 按上述色谱条件测定绿原酸峰面积, 结果表明该溶液在 24 h 内是稳定的, RSD 1.8% ( $n = 8$ )。

**2.1.8 加样回收率试验** 取 6 份已知含量的金银花液 (含绿原酸 2.84 mg · mL<sup>-1</sup>) 10 mL 于 25 mL 量瓶中, 分别加入 2.5 mg · mL<sup>-1</sup> 绿原酸溶液 10 mL, 加水稀释至刻度, 按 2.1.5 项下方法制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 100.4% ( $n = 6$ )。

**2.1.9 样品的测定** 取药厂提供的金银花液, 按 2.1.2 项下方法制备成供试品溶液, 每次进样 50 μL, 计算含量。测定结果见图 1。

## 2.2 紫外光谱法

**2.2.1 样品制备与测试条件** 精密吸取药厂生产线提供的金银花提取液, 用水稀释至 250, 500, 1 000 倍。扫描波长 190 ~ 400 nm, 采样间隔 1 nm。以水为参比进行 UV 光谱测定。

**2.2.2 测定结果分析** 对 19 批金银花液进行了不同稀释倍数的 UV 光谱测定, 发现各批次稀释 500

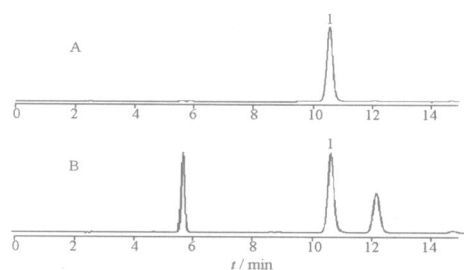


图 1 金银花提取液 HPLC 图

A. 对照品; B. 提取液; 1. 绿原酸

倍时 UV 光谱吸光度范围是 0.2 ~ 1.4, 适合准确定量, 因此选择稀释 500 倍的金银花液的 UV 光谱进行绿原酸含量相关分析的研究。绿原酸与金银花液 UV 光谱见图 2 和图 3。对金银花液 UV 光谱上每隔 1 nm 的吸光度值和 HPLC 测得的同一样品溶液中的绿原酸的含量进行相关性分析, 结果如图 4 所示, 发现在很多波长下的 UV 测试结果与绿原酸含量呈较好的线性关系, 综合分析确定波长为 294 nm, 得到绿原酸含量 ( $C$ ) 的 UV 法预测方程: 绿原酸含量  $C$  (mg · mL<sup>-1</sup>) =  $2.703\,425A_{294\text{ nm}} - 0.129\,18$ ,  $r = 0.992\,9$  ( $n = 19$ )。

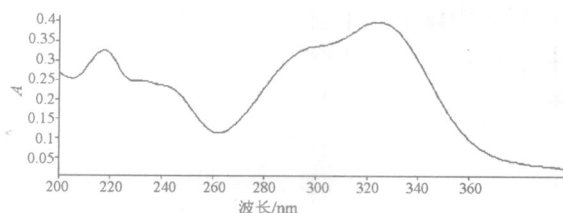


图 2 绿原酸的 UV 图 (0.007 mg · mL<sup>-1</sup>)

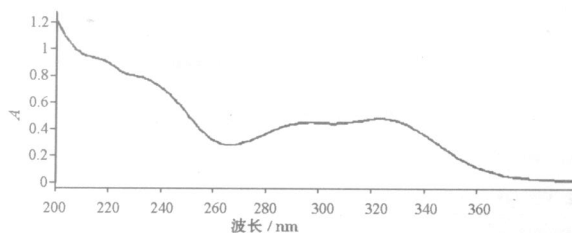


图 3 金银花提取液稀释 500 倍的 UV 图

**2.2.3 精密度试验** 取批号 512107 的金银花液, 稀释 500 倍, 于 294 nm 处连续 6 次重复测定, 将结果代入 UV 预测方程, 计算绿原酸含量, RSD 0.05% ( $n = 6$ )。

**2.2.4 重复性试验** 取 512107 批金银花液, 制备 6 份稀释 500 倍的供试品溶液, 于 294 nm 处测定, 计算绿原酸含量, RSD 0.20% ( $n = 6$ )。

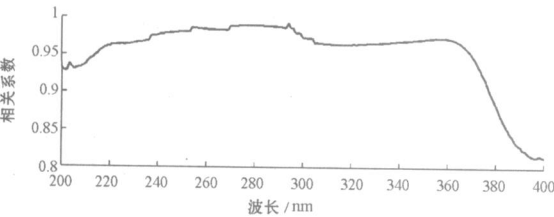


图 4 金银花液中绿原酸含量 (HPLC 测得) 和 UV 光谱吸光度值之间相关系数 波长图

2.2.5 稳定性试验 取批号 512107 的金银花液, 稀释 500 倍, 在室温条件下放置 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 后, 于 294 nm 处测定, 得绿原酸含量, RSD 1.21% ( $n=6$ )。

2.2.6 UV 法测定绿原酸含量结果检验 另取 11 批金银花液, 分别用 HPLC 和 UV 方法进行绿原酸含量测定, 结果见表 1。表中数据表明, UV 方法测定结果同 HPLC 测定结果具有较好的一致性, 并且同时具有快速、简便的特点。

3 讨论

对金银花及其成方制剂中绿原酸的含量测定有多种方法, 应用紫外分光光度法对金银花中绿原酸进行定量主要有 2 种方法, 包括在样品中加入弱碱, 使峰红移而后测定<sup>[3]</sup>, 或者直接测定了金银花中的绿原酸和异绿原酸的加合含量<sup>[4]</sup>。以上方法不但实验步骤繁琐, 而且均不能实现绿原酸的快速定量。本研究采用 HPLC 和 UV 法进行相关分析, 建立了

表 1 UV 方法与 HPLC 绿原酸测定结果比较

| 批号     | 绿原酸 (HPLC)<br>/mg · mL <sup>-1</sup> | 绿原酸 (UV)<br>/mg · mL <sup>-1</sup> | 偏差     | $r$     |
|--------|--------------------------------------|------------------------------------|--------|---------|
| 511104 | 2.27                                 | 2.36                               | 0.09   | 0.995 2 |
| 511204 | 1.56                                 | 1.50                               | - 0.06 |         |
| 511205 | 0.87                                 | 0.79                               | - 0.08 |         |
| 511304 | 2.37                                 | 2.27                               | - 0.10 |         |
| 511404 | 0.73                                 | 0.67                               | - 0.06 |         |
| 511406 | 1.03                                 | 1.10                               | 0.07   |         |
| 511504 | 2.11                                 | 2.20                               | 0.09   |         |
| 511804 | 1.55                                 | 1.63                               | 0.08   |         |
| 511806 | 2.31                                 | 2.41                               | 0.10   |         |
| 511904 | 2.65                                 | 2.66                               | 0.01   |         |
| 512209 | 2.75                                 | 2.86                               | 0.11   |         |

绿原酸的快速预测方程, 通过测定金银花提取液在 294 nm 下的吸光度直接预测绿原酸的含量, 结果表明, 该方法简便、快速、准确, 可实现在线检测。同时, 这种对不同分析测试方法进行相关分析的思路也为中药生产的在线指标成分定量提供了借鉴。

[参考文献]

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005: 152  
[2] 尉 芹, 马希汉. 绿原酸及其提取分离方法评述[J]. 中成药, 2001, 23(2): 136  
[3] 李 宗, 缪建泉. 差示分光光度法测定金银花和成药百毒灵中绿原酸类成分的总含量[J]. 海峡药学, 1997, 9(2): 6  
[4] 钟方晓. 高效液相及紫外分光光度法测定金银花中绿原酸和异绿原酸含量方法学比较[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(3): 212

Rapid determination of chlorogenic acid  
in aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction

L I Na, GAO Xiao-yan, FAN Qiang, Q IAO Yan-jiang

(Beijing University of Chinese Medicine, School of Chinese Pharmacy, Beijing 100102, China)

[Abstract] Objective: To establish a rapid method for the determination of chlorogenic acid in aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction. Method: Chlorogenic acid content in aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction was measured by RP-HPLC. The UV spectrum of the same samples were scanned simultaneously. The wavelength of the best correlation between UV absorbance and chlorogenic acid content determined by HPLC was chosen and the chlorogenic acid content of aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction was estimated by prediction equation. Other 10 batches of aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction was used for testing the equation by comparison of the values of chlorogenic acid content determined by HPLC and equation. Result: Good linearity of chlorogenic acid was obtained within the range of 0.09-2.25 μg by HPLC; The recovery was 100.4%; RSD was 1.1% ( $n=5$ ). The best wavelength in UV spectrum correlating with chlorogenic acid content was 294 nm. The prediction equation: chlorogenic acid content  $C = 2.703 425 A_{294 \text{ nm}} - 0.129 18$ ; Good correlation between chlorogenic acid content determined by HPLC and predicted results was found ( $r = 0.995 2$ ,  $n = 11$ ). RSD was 0.2% ( $n = 6$ ). Conclusion: This method is simple, rapid and accurate for determination of chlorogenic acid and can be used for the rapid control of aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction.

[Key words] aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction; chlorogenic acid; HPLC; UV spectrum

[责任编辑 鲍 雷]