



HPLC法测定金板青颗粒中绿原酸的含量

钟英杰,徐福亮

(青岛康地恩药业有限公司,山东青岛 266111)

中图分类号: S859.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-6354(2009)02-0036-02

金板青颗粒是青岛地恩药业有限公司研发的新兽药,以金银花、连翘、大青叶、黄芩、桔梗、甘草等中药材为原料制备。经临床初步验证本方对非免疫鸡人工感染传染性支气管炎病毒和法氏囊病毒均有良好的预防和治疗作用,可提高雏鸡的免疫力,提高抗病能力。方中金银花为君药,绿原酸是其有效成分,其含量测定方法在其他中药制剂质量控制分析已有一些报道^[1,2]。为确保临床疗效,控制产品质量,笔者等在研制金板青颗粒剂时建立了高效液相色谱法测定颗粒剂中绿原酸的含量方法。

1 仪器与试剂

美国 Agilent1100 高效液相色谱仪; G1313A 自动进样器; G1315B DAD 二极管阵列检测器; Agilent 色谱工作站。绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110753-200413); 乙腈、甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 金板青颗粒为自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB C₁₈ (4.6 × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.4% 磷酸溶液 (8:92); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 328 nm。在此条件下, 绿原酸与复方中其他成分得到很好的分离, 空白溶液无干扰。见图 1。

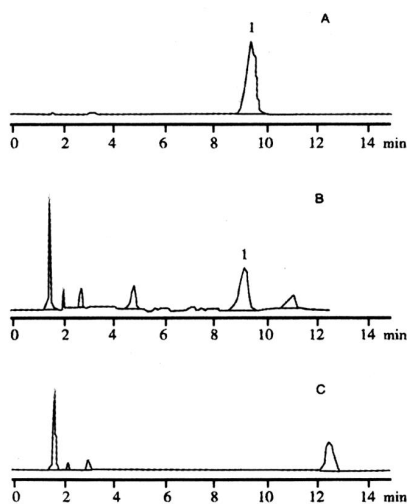


图 1 绿原酸与金板青颗粒 HPLC 图谱

注: A 为绿原酸对照品; B 为金板青颗粒; C 为阴性对照; 1 为绿原酸。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取低温真空干燥至恒重的绿原酸对照品适量, 用 50% 甲醇溶液溶解并定容于 10 mL 的棕色容量瓶中, 摇匀, 配成 0.500 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 棕色容量瓶, 配成 0.050 0 mg/mL 的对照品溶液^[3]。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 50% 甲醇 25 mL, 称定重量, 超声波处理 (功率 250 W, 频率 35 kHz) 10 min, 冷却, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 滤过, 即得。

2.4 阴性对照品的制备

按金板青颗粒制备工艺制备不含金银花药材的阴性对照品。称取该颗粒 0.5 g, 同 2.3 项下方法制备阴性对照品溶液, 备用。

2.5 线性关系考察

精密称取绿原酸对照品 5.00 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀。分别吸取上述溶液 1、2、3、5、7、10 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀。按 2.1 项下色谱条件, 各样品分别进样 20 μL, 测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 对照品浓度为横坐标, 进行线性回归, 回归方程: $y = 1.318 \cdot 3x - 1.3064$, $r = 0.9999$ ($n = 6$)。绿原酸在 10.0 - 100 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.6 阴性对照试验

阴性对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 阴性对照液中无绿原酸峰出现, 故认为该处方中各药成分对测定绿原酸无干扰。

2.7 稳定性试验

取同一批 (批号 20060601) 供试品溶液, 每隔 2 h 进样 20 μL, 按 2.1 项下色谱条件分别测定峰面积, 结果平均峰面积为 1.234 781, RSD 为 0.815% ($n = 5$), 表明在 10 h 内, 绿原酸含量基本稳定。

2.8 精密度试验

取 2.2 项下绿原酸对照品溶液 (每 1 mL 含绿原酸 0.05 mg), 分次进样 (进样量均为 20 μL) 各 6 次, 记录峰面积。计算结果平均峰面积为 1.630 888, RSD 为 0.048% ($n = 6$)。

2.9 重复性试验

取本品 (批号 20060601), 精密称取 6 份, 按 2.1 项下色谱条件独立测定 6 次, 测得绿原酸含量分别为 1.762、1.736、1.780、1.745、1.744、1.753 mg/g, RSD 为 0.890% ($n = 6$)。

收稿日期: 2008-11-03

作者简介: 钟英杰 (1980-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药化学及中药新药开发, E-mail: zhong761@yahoo.com.cn



2.10 回收率试验

分别精密称取已知含量的样品 0.5 g (批号 20060601) 各 6 份 (绿原酸含量为 1.753 mg/g)。精密加入绿原酸对照品溶液 1 mg, 依 2.3 项下方法操作制备供试品, 取 20 μL 测定, 计算加样回收率, 结果平均回收率为 103.983%, RSD 为 1.714%。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

试验号	样品取 样量 /g	样品已知 含量 /mg	加入对照 品量 /mg	绿原酸测 得量 /mg	回收率 /%
1	0.5011	0.9054	1	1.9393	103.39
2	0.5023	0.9012	1	1.9005	99.93
3	0.5012	0.9021	1	1.9036	100.15
4	0.5002	0.9119	1	1.9007	98.88
5	0.5017	0.8993	1	1.9013	100.20
6	0.5021	0.8949	1	1.9144	101.95

2.11 样品的含量测定

取 3 个批次的金板青颗粒, 按供试品溶液的制备项下制备, 采用上述色谱条件测定绿原酸的含量, 分别为 1.7、1.8、1.7 mg/g。

3 讨论

3.1 取绿原酸对照品适量, 在 200 - 600 nm 波长进行紫外扫描, 结果在 328nm 波长有特征吸收, 故选择 328 nm 作为检测波长。

3.2 在对供试品溶液的制备方法^[5]的考察中, 选择了乙醇和甲醇超声提取, 经测定表明, 甲醇较乙醇提取含量高, 所以

提取溶剂选择甲醇。还比较了用 50% 甲醇超声提取 5、10、20 min 所得含量的差异。提取 10 min 后, 绿原酸的含量将不再增加。故以甲醇超声 10 min 作为提取方法。

3.3 该实验比较了流动相乙腈 - 0.4% 磷酸溶液的比例分别为 (13:87)^[6] 和 (8:92) 的分离情况, 最终选择乙腈 - 0.4% 磷酸溶液 (8:92) 为流动相, 待测物与杂质完全分离, 并可取得较好的峰形和较高的分离度, 结果满意。

3.4 方法学研究表明, 该测定方法操作简单, 结果准确, 重复性好, 空白无干扰, 可作为金板青颗粒中质量标准含量测定方法。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [2] 张明光, 齐曼丽, 云青, 等. HPLC 测定精制银翘解毒片中绿原酸的含量 [J]. 中成药, 2005, 27(3): 364 - 365.
- [3] 张丹, 李章万, 姜焱. HPLC 测定金银花、茵陈及其 10 种中成药中绿原酸的含量 [J]. 中成药, 1996, 16(2): 83 - 85.
- [4] 柳仁民, 邓爱霞. 银翘解毒丸中金银花药材 HPLC - UV 鉴定及绿原酸含量测定 [J]. 中成药, 2004, 26(12): 999 - 1002.
- [5] 孙会敏, 邢成, 范欣戎, 等. HPLC 法测定金银花及降脂健心冲剂中绿原酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2003(23): 76 - 79.
- [6] 喻贵英, 潘宏春, 刘红梅, 等. RP - HPLC 法测定金银花糖浆中绿原酸的含量 [J]. 中草药, 2003, 34(9): 808 - 809.

HPLC 测定滇丹参 SFE - CO₂ 和常规提取物中丹参酮_A 的含量

卫强, 陈奎

(安徽新华学院, 安徽合肥 230088)

中图分类号: S859.7

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 6354(2009)02 - 0037 - 03

丹参具有活血调经, 祛瘀止痛, 凉血消痈, 清心除烦的功效。其药材及制剂的丹参酮_A 含量测定方法国内报道很多, 但对丹参提取物的含量测定鲜有报道。笔者等以 2005 年版《中国药典》^[1] 和唐丽萍的测定方法为参考, 应用高效液相色谱 (HPLC) 法滇丹参对 SFE - CO₂ 提取物和常规提取物中丹参酮_A 含量进行测定, 以期对制定丹参提取物的质量控制方法提供依据。

收稿日期: 2008 - 11 - 28

作者简介: 卫强 (1977 -), 男, 助教, 主要从事中药化学教学与中药资源开发研究。

1 材料与仪器

1.1 仪器

HA221 - 50 - 06 型超临界萃取装置 (南通华安超临界萃取有限公司), 高效液相色谱仪 (Waters Alliance 2690, 美国), 紫外检测器 (Waters PAD996), AEG - 120 型电子天平 (日本岛津)。

1.2 样品

药材为滇丹参, 购自亳州药材市场, 经安徽新华学院药用植物教研室鉴定为唇形科滇丹参 *Salvia yunnanensis* C. H. Wright 的根。对照品丹参酮_A (批号 110766 - 200314), 由