

高效液相色谱测定无花果含片中绿原酸的含量

唐仁茂 陈志清(姜堰 225500 江苏苏中制药厂)

无花果含片由无花果、土牛膝、金银花、牡丹皮等八味药材组成的复方制剂,具有清热解毒、消肿利咽的功效。主药成份复杂,定量困难。绿原酸是金银花抑菌作用的有效成份已有公认,在本品制备过程中金银花是与君药无花果等其它药材同法提取的,测定其有效成份具有代表性。文献报道绿原酸的含量测定方法有紫外分光光度法^[1]、薄层扫描法^[2]、高效液相色谱法^[3]等。本文采用 HPLC 测定无花果含片中绿原酸的含量,取得了满意的效果。

1 仪器与试剂

1.1 岛津 LC-10A 高效液相色谱仪;SPD-10A 紫外检测器;JS-3030 色谱工作站。

1.2 绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:753-9406);甲醇为色谱纯;其它试剂均为分析纯。

1.3 无花果含片(江苏苏中制药厂,批号:990205,990207 和 990209)。

2 色谱分析条件

色谱柱:天津特纳 Kromasil C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(15:85:1:0.3);在此条件下样品中的绿原酸与其它相关峰均能达到基线分离,特征峰保留时间在 5 min 之内。理论塔板数为 3160。该条件下对照品、样品及阴性样品的色谱图见图 1。

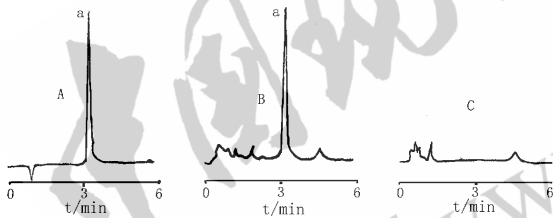


图 1 色谱图

A- 对照品;B- 样品;C- 阴性样品;a- 绿原酸

3 方法及结果

3.1 绿原酸对照品的纯度测定 取干燥至恒重的绿原酸对照品约 4 mg,置 100 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,依上述条件进样 10 μl,色谱出峰时间为 30 min,以峰面积归一化法计算,绿原酸的含量为 99.84 %,符合含量测定要求。

3.2 对照品溶液的制备 取干燥至恒重的绿原酸对照品约 14 mg,精密称定,置 100 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

3.3 标准曲线的制备 分别精密吸取对照品溶液 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 和 6.0 ml 置 10 ml 量瓶中,加水至刻度,摇匀,在上述色谱条件下,分别进样 10 μl 进行分析,以绿原酸对照品浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A = 14337c + 1.6032 \times 10^6$, $r = 0.9999$,结果表明,绿原酸的进样量在 70 ~ 840 ng 范围内峰面积积分值与浓度呈良好的线性关系。

3.4 精密度试验 精密吸取 3.3 项中 4 号对照品溶液,进样 10 μl,测定峰面积值,连续进样 5 次,结果 $RSD = 0.49 %$ 。

3.5 样品含量测定 取样品约 0.4 g,精密称定,置 50 ml 量瓶中,加水适量,超声振荡 15 min,放冷至室温,加水至刻度,摇匀,滤过,取滤液作为供试品溶液,按上述条件取供试品溶液 10 μl 进行分析,结果见表 1。

表 1 无花果含片中绿原酸的含量/ $n = 3$

批 号	含量(mg/ 片)	RSD/ %
990205	3.1978	0.79
990207	3.5660	0.53
990209	3.2256	1.42

3.6 稳定性试验 取同一样品,按本法制成供试液,每间隔 1 h 测定一次含量,在 12 h 内溶液稳定, $RSD = 1.56 %$ 。如果置冰箱冷藏,溶液在 24 h 内仍能保持稳定。

3.7 重现性试验 取同一批号样品,精密称定 5 份,分别按样品含量测定方法处理后分析,结果见表 2。

表 2 重现性试验结果

编 号	含量(mg/ 片)	平均含量(mg/ 片)	RSD/ %
1	3.4809	3.4551	1.10
2	3.4329		
3	3.5092		
4	3.4305		
5	3.4219		

3.8 阴性对照试验 取不含有金银花药材的样品,按样品含量测定方法处理后试验,结果表明,本品处方中的其它药材不含有绿原酸成分,色谱图见图 1。

3.9 回收率试验 采用加样回收法,取已测含量的无花果含片适量,精密称定,精密加入一定量的绿原酸对照品溶液,按样品含量测定方法制备供试品溶液并进行测定,计算回收率,结果见表 3。

表 3 回收率试验/ $n = 6$

样品中含绿原酸量/ mg	加入绿原酸量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	$\bar{x}$ %	RSD/ %
0.679	0.556	1.244	101.62	99.62	1.6
0.612		1.171	100.54		
0.725		1.270	98.02		
0.575		1.128	99.46		
0.773		1.315	97.48		
0.625		1.184	100.54		

4 讨 论

4.1 无花果含片系由八味药材组成的中药复方制剂,成份复杂。作者曾试图运用已报导的文献资料中所载条件,对该

品种中绿原酸的含量进行测定,结果都未能得到满意的效果。运用该法测定无花果含片中绿原酸的含量,方法简单,测定成份与其它组分能达到很好的基线分离,重现性好,回收率高,检测时间短(每份样品只需10 min)。

4.2 实验中曾对超声振荡时间进行了考察,结果7,15 和30 min 的含量测定结果基本一致,故选定超声振荡时间为15 min。

参考文献

- 1 中国药典.一部.1995:189.
- 2 王宝茱.中成药质量标准与标准物质研究.北京:中国医药科技出版社,1994:375.
- 3 刘健,刘晨江,赵志鸿.高效液相色谱法测定清肝利胆冲剂中绿原酸的含量.药物分析杂志,1996,16(2):124.

收稿日期:1999-11-10