

# HPLC 法测定蜂胶片中两种有效成分的含量

★ 王欢<sup>1</sup> 胡红刚<sup>2</sup> 黄小健<sup>1</sup> (1. 江西省食品药品监督管理局药品稽查局 南昌 330029; 2. 江西省食品药品检验所 南昌 330029)

关键词: 蜂胶片; 白杨素; 高良姜素; HPLC

中图分类号: R 284.1 文献标识码: B

本文采用高效液相色谱法测定蜂胶片中白杨素、高良姜素 2 种有效成分的含量。

## 1 仪器与试剂

岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); UV2401 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); Sartorius BP211D 精密电子天平(德国 Sartorius Corporation); Mettler AE163 电子天平(美国 Mettler Corporation); 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水。其它试剂均为分析纯。

白杨素对照品(北京阜特斯化工材料有限公司购, Acros Corporation, 产品编号: 11032-0050; 归一化法标定含量为 100%), 高良姜素对照品(上海友思生物技术有限公司, 批号: 041029; 归一化法标定含量为 100%)。

实验用蜂胶片由江西汪氏药业有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm), 流动相: 甲醇-0.15% 磷酸溶液(64:36), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 268 nm, 柱温: 25 ℃。在该色谱条件下, 白杨素、高良姜素 2 种成分均被洗脱且达到基线分离, 保留时间分别为 22.3、24.7 min, 按白杨素、高良姜素 2 种峰计算, 理论塔板数应不低于 3 000。

### 2.2 对照品及供试品溶液的制备

2.2.1 对照品储备液 分别精密称取对照品白杨素 16.40 mg、高良姜素 10.15 mg, 分别置 50 ml 量瓶中, 以甲醇溶解并定容, 配置成相应浓度的对照品储备液, 使用时稀释成所需浓度。

2.2.2 样品溶液 精密称取蜂胶片细粉 0.25 g, 置 100 ml 量瓶中, 加入甲醇适量超声 10 min 使溶解, 放冷至室温, 用甲醇定容, 滤过, 取续滤液为供试品溶液。

### 2.3 白杨素、高良姜素方法学考察

2.3.1 白杨素、高良姜素线性关系考察 精密量取上述 2 种对照品储备液, 以甲醇配置浓度分别为: 白杨素 6.56、19.68、32.80、45.92、59.04 μg/ml; 高良姜素 4.06、12.18、20.30、28.42、36.54 μg/ml 的混合对照品标准溶液。在选定的色谱条件下, 每次进样 10 μl, 以峰面积的积分值定量, 以浓度(C)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标, 绘制标准曲线, 并进行回归分析, 白杨素、高良姜素的回归方程分别为: 白杨素:  $A = 63\,072C - 41\,219$ ,  $r = 0.999\,9$ ; 高良姜素:  $A = 42\,197C - 38\,608$ ,  $r = 0.999\,9$ ; 线性范围分别为: 0.065 6 ~ 0.590 4 μg; 0.040 6 ~ 0.365 4 μg。

2.3.2 精密度实验 分别取白杨素对照品(32.80 μg/ml)溶液、高良姜素对照品(20.30 μg/ml)溶液, 各连续进样 5

次, 分别测定峰面积, RSD 分别为 0.25%、0.28%。表明进样精密度良好。

2.3.3 重复性实验 精密称取同一批蜂胶片细粉 5 份, 每份 0.25 g, 分别按样品溶液的处理方法制备样品液, 进样 10 μl, 在选定的色谱条件下测定白杨素、高良姜素的含量, RSD 分别为 0.6%、1.4%。表明该方法的重现性良好。

2.3.4 稳定性实验 将同一样品溶液隔 0、2、4、6、8、12 h 进样 10 μl, 在选定的色谱条件下测定白杨素、高良姜素的峰面积, RSD 分别为 0.9%、1.2%。表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.5 加样回收率实验 取已知含量的同一供试品 5 份, 分别精密加入白杨素对照品储备液(0.328 mg/ml)、高良姜素对照品储备液(0.203 mg/ml)各 2 ml, 按样品溶液的处理方法操作, 测得白杨素、高良姜素的平均回收率(%)分别为 99.18%、99.10%; RSD(%)分别为 0.88%、0.81%。

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

应用紫外可见分光光度计在 200 ~ 400 nm 波长范围内对白杨素、高良姜素进行扫描, 其中白杨素在 315、268、216 nm 波长处有最大吸收, 而高良姜素对照品分别在 358、310、266、238 nm 波长处有最大吸收, 故认为这两种物质在 268 nm 波长处均有较好吸收, 故我们最终选择检测波长为 268 nm。

### 3.2 空白辅料干扰实验

按处方比例称取辅料适量(与 0.1 g 蜂胶相当), 置于 100 ml 的量瓶中, 加甲醇适量, 超声使溶解后, 放冷至室温后用甲醇定容到刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 μl 注入色谱仪, 记录色谱图。结果表明本品的空白辅料对测定无干扰。

### 3.3 流动相与色谱柱的选择

通过试验结果, 发现白杨素、高良姜素的理论塔板数均在 3 000 以上, 峰型也较好, 两者分离度均符合规定。此外, 还对 3 种色谱柱进行比较, 在该色谱条件下, Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm)、Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm)和 Restek C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm)分离度均较好, 理论塔板数均在 3 000 以上。

### 3.4 样品的处理

通过比较无水乙醇、甲醇和三氯甲烷等溶剂, 发现只有甲醇对 2 种有效成分提取效率最高, 分离度最好。比较了加热回流提取和超声提取, 2 种方法无明显差异, 因超声提取简便, 故选择超声提取。在此基础上, 用超声波分别提取 5、10、20、30 min, 结果表明 10 min 可将 2 种有效成分提取完全。

(收稿日期: 2008-07-10)