栏目特约 博士达药业

HPLC 法测定牛玄石颗粒中绿原酸的含量

★ 曾荣香[1] 段嬿楠[2] 赖建奇[2] (1.广东省佛山市中医院 佛山 528000;2.江西省南昌市食品药品检验所 南昌 330029)

摘要:目的:建立牛玄石颗粒中绿原酸的 HPLC 测定方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱:YWG-C18 柱(250 mm×4.6 mm,10 μm);流动相:乙睛-0.4% 磷酸溶液(15:85);流速:1.0 ml·min^{-1};检测波长:327 nm;柱温:室温。结果:绿原酸在 5~40 μg/ml 浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数 r=0.999 8,平均回收率为 98.5%,RSD 为 0.5%。结论:该方法灵敏度高,操作简便,结果准确可靠,可作为该制剂质量控制方法。

关键词:牛玄石颗粒;绿原酸;HPLC

中图分类号:R 927.2 **文献标识码**:A

牛玄石颗粒由牛膝、玄参、石斛、金银花等药物组成,具有清热养阴、活血化瘀的功效,用于血栓闭塞性脉管炎、静脉血栓形成、动脉硬化性闭塞症、脑血栓形成及其后遗症等。其主要成分为绿原酸、咖啡酸、肉桂酸等。方中只有金银花含有绿原酸,考虑到对照品获得的难易、各成分在处方中的比例以及牛玄石口服液原标准,我们选择方中的有效成分绿原酸为测定对象,进行含量测定方法学研究[1]。

1 仪器与试药

仪器:Agilent 1100 series 高效液相色谱仪(G1310A IsoPump、G1314A VWD),N2000 色谱工作站,岛津 UV2101PC 紫外可见分光光度计。

对照品:绿原酸对照品(购于中国药品生物制品检定所,编号为 0753-200212)。样品:牛玄石颗粒(批号 060416,060417,060418)。试剂:乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-0.4% 磷酸溶液(15∶85)为流动相;检测波长为 327 nm。流速:1.0 ml·min^{-1};进样量:20 μl;柱温:室温;理论塔板数按绿原酸峰计算应不低于 3 000[2]。

2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并制备成每 1 ml 含 20.2 μg 的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品约 0.3 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 ml,塞紧,称定重量,超声 10 分钟使溶解,放冷,再称定重量,滴加相同溶剂补充至相同重量,滤过,取续滤液过 0.45 μm 滤膜,即得。

2.4 阴性溶液制备 取缺金银花的阴性颗粒 0.6 g,依供试品溶液制备法制备,即得阴性溶液。

2.5 干扰试验 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,按上述色谱条件测定,样品、对照品中的绿原酸峰能与其他峰达到基线分离,分离度大于 1.5,阴性对照溶液没有干扰。

2.6 标准曲线的制备 取绿原酸对照品 10.10 mg 至 200 ml 容量瓶中加 50% 甲醇溶解并至刻度,摇匀,即得 0.050 5 mg/ml 的对照品溶液。精密量上述对照品溶液取 1、2、4、6、8 至 10 ml 容量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,即得不同浓度的对照品溶液,分别吸取上述各对照品溶液 20 μl 注入色谱仪中,测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,对照品浓度为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y=39575X-1159.3$($r=0.999\ 9$),说明绿原酸对照品在 5~40 μg/ml 浓度范围内线性关系好。

2.7 精密度试验 将样品溶液(批号 060416),连续 6 次注入液相色谱仪中,测定峰面积,*RSD* 为 0.95%,表明精密良良好。

2.8 稳定性试验 将样品溶液(批号 060416),经过不同时间(1、2、3、6、8、24 小时)注入液相色谱仪中,测定峰面积,计算平均峰面积和 *RSD*。*RSD* 为 1.21%,说明样品在 24 小时内稳定性好。

2.9 样品重现性试验 取同一批号(批号:060416)的样品约 0.3 g,六份,精密称定,分别精密加入 50% 甲醇 50 ml,照样品制备方法制备,并测定含量,计算平均含量 *RSD*。结果样品平均含量为 3.04(mg/g),*RSD* 为 0.03%,说明本法重现性好。

2.10 加样回收率试验 取同一批号已知含量的样品(批号:060416,含量为 3.04 mg/g)0.15 g,六份,

江西中医药 http://www.ajutcm.com

HPLC 测定黄芪建中丸中黄芪甲苷的含量

★ 郭小春 陈金霞 （江西南昌济生制药厂 南昌 330115）

摘要：目的：建立黄芪建中丸中有效成分含量的 HPLC 测定方法。方法：采用 AlltechC_{18} 柱，流动相为乙腈-水（35∶65），蒸发光散射检测器。结果：黄芪甲苷在 0.1972～2.465 μg（R=0.999 1）范围内进样量对数与峰面积对数成线形关系。平均回收率（n=6）为 98.70%，*RSD* 为 0.4%。结论：本法测定操作简便，结果可靠、准确，可用于该产品的质量控制。

关键词：黄芪建中丸；黄芪甲苷；HPLC

中图分类号：R 927.2　　**文献标识码**：A

黄芪建中丸由黄芪、桂枝、白芍、炙甘草、生姜、大枣、饴糖等药材制成，具有补气散寒，健胃和中的功效。用于中气不足，心悸气短，恶寒腹痛[1]。该制剂标准目前含量测定采用高效液相法测定芍药苷，而没有测定黄芪中黄芪甲苷的含量，故尝试测定方中重要成分黄芪甲苷的含量，以便提高其质量控制标准。本文采用高效液相色谱法，对制剂中黄芪甲苷进行含量测定，结果满意。

1　仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪：配有 Waters717 全自动进样器、Waters600 泵、Waters2420 蒸发光散射检测器和 Empower 色谱数据工作站。试药：黄芪甲苷对照品（中国药品生物制品检定所）；黄芪建中丸（赤峰天奇制药有限责任公司，批号 20080705、20080810、20080811）；甲醇为色谱纯，水为双重蒸馏水。

2　色谱条件

色谱柱：AlltechC_{18} 柱（5 μm，250 mm×4.6

精密称定，置已经加了绿原酸对照品的三角锥形瓶中，照样品制备方法制备，并测定绿原酸总量，计算加样回收率及平均回收率。结果平均回收率为 98.52%，*RSD*% 为 0.53%，说明本方法准确、可靠。结果见表 1。

表 1　加样回收试验结果

编号	称样量/g	含绿原酸量/mg	加入绿原酸/mg	测出量/mg	回收率%	平均回收率%	*RSD*%
1	0.151 2	0.459 6	0.458	0.915 2	99.47		
2	0.151 5	0.460 6	0.458	0.910 3	98.20		
3	0.157 4	0.478 5	0.366 4	0.840 1	98.69	98.52%	0.53%
4	0.155 6	0.473 0	0.366 4	0.833 5	98.38		
5	0.157 7	0.4794	0.549 6	1.020 3	98.42		
6	0.155 6	0.473 0	0.549 6	1.011 5	97.98		

2.11　样品测定　取三批不同批号的样品 0.3 g，精密称定，各两份，依法测定各批号样品的绿原酸含量。结果三批样品绿原酸含量均高于 15 mg/袋。因此规定样品含金银花量以绿原酸计不得小于 12 mg/袋。结果见表 2。

表 2　样品含量测定结果

批号	称样量/g	含量/mg·g^{-1}	平均/mg·g^{-1}	*RSD*%	样品含量/mg·袋$^{-1}$
060416	0.3039	3.047	3.044	0.16	15.37
	0.3035	3.040			
060417	0.3078	3.628	3.64	0.69	18.48
	0.3056	3.650			
060418	0.3001	3.586	3.14	0.83	18.44
	0.3022	3.641			

3　讨论

3.1　*样品制备方法选择*　牛玄石颗粒的制备工艺是采用水煎煮后，经过两次乙醇纯化，样品颜色比较浅，参考中国药典 2005 年版一部金银花含量测定方法，选用 50% 甲醇 50 ml 为本样品的提取溶剂，样品在此溶剂中经过短时超声就能够完全溶解，因此我们考虑不同超声时间 5、10、15 分钟对绿原酸提取率的影响。结果样品经超声 10 分钟以后，样品绿原酸含量几乎保持不变，因此超声时间选用 10 分钟。

3.2　*流动相的选择*　本实验比较了乙腈-0.4% 磷酸溶液（15∶85）、甲醇-水-甲酸、甲醇-水-冰醋酸等流动相的分离效果，最后选用乙腈-0.4% 磷酸溶液（15∶85）为流动相，绿原酸能获得较好的峰形，数据重现性较好。

总的来说，方中主药金银花主含绿原酸，以此定量监控指标，结果准确可靠，且重现性好，可有效地控制本制剂质量。

参考文献

[1] 郑占虎，董泽宏，佘靖. 中药现化研究与应用（第二卷）[M]. 北京：学苑出版社，1997：1 377.

[2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2005 版一部[S]. 北京：化学工业出版社，2005：153－154.

（收稿日期：2009-04-29　责任编辑：查青林）

江西中医药 http://www.ajutcm.com