

# HPLC 法测定金银花及利咽止咳冲剂中绿原酸的含量

朱 青 李光慧 侯晓明 胡文洁\* 卜玉荣\*  
(北京市卫生局临床药学研究所 100035)

**摘要** 采用高效液相色谱法测定金银花及其制剂“利咽止咳冲剂”中绿原酸的含量。以 KYWG-C<sub>18</sub> 为固定相,水-乙腈-冰醋酸(110:3:3)为流动相,检测波长为 323nm,绿原酸在 0.01~0.10mg/ml 浓度范围与峰面积呈直线关系,回归方程为  $Y = -2.4605 \times 10^3 + 5.6138 \times 10^5 X$ ,  $r = 0.9998$ 。平均回收率为 100.87%,RSD 为 1.55%( $n=6$ )。本法简便,快速,结果可靠。

**关键词** 绿原酸 金银花 利咽止咳冲剂 高效液相色谱法

## Determination of Chlorogenic Acid in Flos Lonicerae and “Liyan Zhike Chongji” by HPLC

Zhu Qing, Li Guanghui, Hou Xiaoming, Hu Wenjie, Bu Yurong  
(Beijing Institute for Clinical Pharmacy Research, Beijing, 100035)

**Abstract:** Chlorogenic acid in Flos lonicerae and “Li Yan Zhi Ke Chong Ji” was determined by high performance liquid chromatography. Chlorogenic acid was separated on KYWG-C<sub>18</sub> column and detected at 323nm, using water-acetonitrile-acetic acid (110:3:3) as mobile phase. There is a good linearity from 0.01 to 0.10 mg/ml of gatrodin ( $r = 0.9998$ ,  $Y = -2.4605 \times 10^3 + 5.6138 \times 10^5 X$ ). The average recovery was 100.87% and the relative standard deviation was 1.55% ( $n=6$ ). This method is simple, rapid and reliable.

**Key words:** Chlorogenic acid, Flos lonicerae, Li Yan Zhi Ke Chong Ji, HPLC

利咽止咳冲剂是由金银花、桔梗、甘草、射干、杏仁等八味药制成的中成药,具有利咽止咳、宣肺化痰的功效。为控制制剂质量,本文采用反相高效液相色谱法测定了制剂及药材中金银花有效成分绿原酸的含量。

### 1 实验部分

**1.1 仪器和试剂** 岛津 LC-4A 高效液相色谱仪,SPD-2A 紫外检测器,CR-6A 数据处理机,TZ-2C 型台式旋转振荡器。

绿原酸标准品(中国药品生物制品检定所),光谱纯乙腈(上海脑研究所),金银花(Flos lonicerae)(市售),利咽止咳冲剂由北京医科大学提供。其它试剂均为分析纯。

### 1.2 方法与结果

**1.2.1 高效液相色谱条件** 色谱柱:KYWG-C<sub>18</sub>(10 $\mu$ m),250mm $\times$ 4.6mm;流动相:水-乙腈-冰醋酸(110:3:3);柱温:室温;流速 1ml/min;检测波长:323nm。

\* 北京医科大学应用药物研究所

**1.2.2 精密试验及稳定性** 同一样品提取液连续进样5次,每次10 $\mu$ l,每针50分钟,记录色谱峰,绿原酸峰面积积分值基本不变,其平均值 $\bar{X}$ =137284,RSD=0.97%。说明本方法精密度良好,且样品至少保持3小时稳定。

**1.2.3 重现性试验** 同一样品平行测定5份,含量平均值为0.72mg/g,RSD=0.62%。

**1.2.4 标准曲线的绘制** 精密称取绿原酸对照品10mg置10ml棕色容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。将上述溶液分别稀释为0.01,0.02,0.04,0.08,0.10mg/ml浓度的溶液,分别进样10 $\mu$ l,记录色谱图(图1),以绿原酸标准品进样量(X)( $\mu$ g)横坐标,峰面积(Y)为纵坐标做回归计算,回归方程为 $Y = -2.4605 \times 10^3 + 5.6138 \times 10^5 X$ , $r = 0.9998$ 。绿原酸在0.01~0.1mg/ml范围内线性良好。

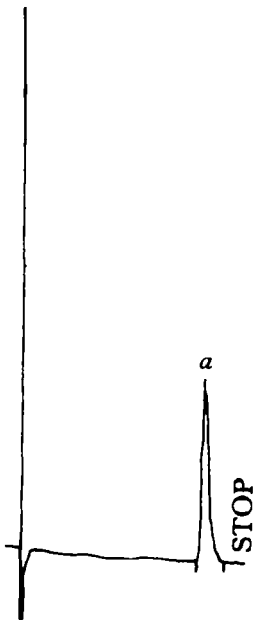


图1 绿原酸色谱图

**1.2.5 回收率试验** 精密称取已知含量的样品0.5g,精密加入对照品一定量,其余操作同制剂测定项下的方法。结果见表1。平均回收率为100.87%,RSD=1.55%。

表1 回收率试验

编号	对照品加入量(mg)	对照品测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(D)
1	0.2769	0.2829	102.2		
2	0.2769	0.2777	100.3		
3	0.2769	0.2728	98.5	100.87	1.55
4	0.2769	0.2804	101.3		
5	0.2769	0.2847	102.8		
6	0.2769	0.2771	100.1		

**1.2.6 药材含量测定** 精密称取金银花粉末0.1g,置50ml棕色容量瓶中,加甲醇40ml超声提取2hr,放冷,加甲醇至刻度,混匀,静置,取上清液约1ml,离心10分钟(10000转/分),取上清液进样10 $\mu$ l,记录色谱图(图2),计算药材中绿原酸含量。对三批市售药材进行了测定,其绿原酸含量分别为28.04、28.58、22.90mg/g。

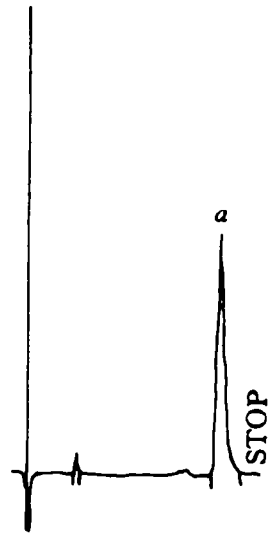


图2 金银花色谱图

**1.2.7 样品含量测定** 精密称取样品1g,置50ml棕色容量瓶中,加水40ml,置旋转振荡器上振荡提取0.5hr,加水至刻度,摇匀,取约1ml,离心10分钟(10000转/分),取上清液进样10 $\mu$ l,记录色谱图(图3),计算样品中绿原酸含量。结果见表2。

表2 样品测定结果

批号	930512	930520	930531	930618	930620	930621
绿原酸 含量 (mg/g)	0.72	0.60	0.57	0.94	0.96	1.03



图3 样品色谱图

**1.2.8 空白试验** 按样品制作方法制备不含金银花的空白样品一份。照样品测定法测定。空白基本无干扰。色谱图见图4。



图4 空白样品色谱图

**1.2.9 样品稳定性试验** 三批样品室温放置一年。分别于0、3、6、12个月测定其含量。

表3 样品稳定性试验

批号	0月	3月	6月	12月
930512	0.72	0.75	0.76	0.74
930520	0.60	0.61	0.63	0.62
930531	0.57	0.55	0.56	0.59

结果见表3。试验结果表明,本品在室温避光条件下放置一年基本稳定,绿原酸含量无显著性变化。

## 2 讨论

**2.1** 据文献报道<sup>[1~3]</sup>试用甲醇-水-冰醋酸(24 : 75 : 1),水-甲醇-乙腈-冰醋酸(95 : 10 : 5 : 2),甲醇-水-四氢呋喃(25 : 57 : 18)等流动相,分离效果均不理想,改用水-乙腈-冰醋酸(110 : 3 : 3)得到较好的分离效果。

**2.2** 绿原酸溶液在自然光下变化较快,操作中应注意避光,使用棕色容器。但其在固体状态下比较稳定。

**2.3** 样品和药材的提取溶媒分别考察了乙醇、甲醇、水,提取方法则考察了振荡、回流、超声。样品以水为溶媒,振荡提取最为简单,快速。药材则以甲醇为溶媒,超声提取效果最高。因此样品和药材采用了不同的提取方法。

**2.4** 本法据有快速、准确、灵敏,精密度高等优点,不仅可用于利咽止咳冲剂的质量控制,并为其他含有金银花的中成药的含量测定提供参考依据。

## 参考文献

- [1]徐凯健,陆义诚,孙孝祥等. 中草药 1991;22(2) : 53
- [2]张绍青,罗燕燕,袁路华等. 中国中药杂志 1993;18(7) : 420
- [3]陈定一,周原,谢文. 中成药 1992;14(6) : 11

(收稿:1996-04-10)