

HPLC法测定消咳喘糖浆中槲皮素和杜鹃素的含量

马洪波¹,王启迪²,冯文军^{1*}

(1. 哈药集团中药二厂,黑龙江 哈尔滨 150078; 2. 哈药集团三精制药有限公司,黑龙江 哈尔滨 150010)

消咳喘糖浆对治疗慢性支气管炎、感冒咳嗽有显著的疗效,由满山红(杜鹃花科植物兴安杜鹃)*Rhododendron dahuricum* L.的干燥叶提取制成,含有槲皮素、杜鹃素等黄酮类有效成分。文献^[1-3]报道采用 HPLC法使用不同的流动相、不同检测波长分别测定其含量,方法较繁琐。本实验探讨使用一种流动相、流速梯度法,同一检测波长的条件下,测定槲皮素和杜鹃素的含量,得到满意的分离效果,方法简便、易行,定量准确、快速,节省试剂,缩短分析时间,提高了检测效率。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪(自动进样器、恒温柱箱), Waters 2996 二极管阵列检测器, Millennium³² 色谱工作站;槲皮素、杜鹃素对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 0081-9905 0850-200203);甲醇、乙腈均为色谱纯,磷酸为分析纯;消咳喘糖浆(哈药集团中药二厂)

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Waters Nova-pak C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.9 mm, 4 μ m);流动相: 乙腈-水-磷酸(200:300:1);检测波长: 297 nm;柱温: 25 $^{\circ}$ C;流量梯度法: 0~12 min, 0.2 mL/min; 12~13 min, 0.2~0.9 mL/min; 13~19 min, 0.9 mL/min; 19~20 min, 0.9~0.2 mL/min; 20~25 min, 0.2 mL/min (20~25 min 不记录色谱图)。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取槲皮素对照品 1.20 mg 和杜鹃素对照品 0.67 mg 置于 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并加至刻度,制成混合对照品溶液(槲皮素质量浓度为 0.024 0 mg/mL,杜鹃素质量浓度为 0.013 4 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备: 精密量取消咳喘糖浆 3.0 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇 20 mL,超声 5 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,0.45 μ m 滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系考察: 取槲皮素和杜鹃素混合对照品溶液进样 2, 6, 10, 14, 18, 22 μ L, 以进样量为横坐

标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程,槲皮素: $Y = 6596601.5X - 66442.6$, $r = 0.9998$, 线性范围: 0.050 4~0.554 4 μ g; 杜鹃素: $Y = 4121862.5X - 23465.8$, $r = 0.9998$, 线性范围: 0.026 8~0.294 8 μ g。

2.5 稳定性试验: 取消咳喘糖浆供试品溶液分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样,测定峰面积,计算,槲皮素 RSD 为 0.35%, 杜鹃素 RSD 为 0.79%。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.6 精密密度试验: 取消咳喘糖浆供试品溶液,进样 5 次,每次 10 μ L,测定峰面积,计算,槲皮素 RSD 为 0.08%; 杜鹃素 RSD 为 0.73%。

2.7 重现性试验: 取消咳喘糖浆(批号: 020506),按供试品溶液的制备方法制成 5 份供试品溶液,进样测定峰面积,计算,槲皮素 RSD 为 0.83%; 杜鹃素 RSD 为 0.91%。

2.8 加样回收率: 取批号为 020506 的消咳喘糖浆,精密量取 1.5, 2.0, 2.5 mL 各两份,精密加入混合对照品溶液 12.0, 10.0, 8.0 mL,按供试品溶液的制备方法制成溶液,进样,测定质量浓度,计算,槲皮素平均回收率为 99.39%, RSD 为 1.2%; 杜鹃素平均回收率为 100.40%, RSD 为 1.1%。

2.9 样品测定: 取 5 批消咳喘糖浆按供试品溶液的制备方法制成样品溶液,与混合对照品溶液各进样 10 μ L,测定峰面积,用外标法计算槲皮素和杜鹃素的含量,结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 消咳喘糖浆中槲皮素和杜鹃素的含量 ($n=3$)

Table 1 Quercetin and farrerol in Xiaokechuan Syrup ($n=3$)

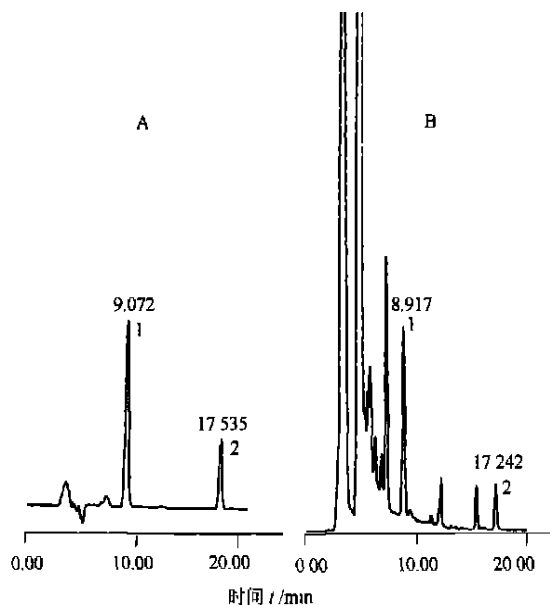
批号	槲皮素 / (mg \cdot mL $^{-1}$)	杜鹃素 / (mg \cdot mL $^{-1}$)
020506	0.22	0.098
020610	0.14	0.092
030206	0.31	0.070
030309	0.31	0.110
030610	0.28	0.077

3 讨论

流动相中加入磷酸能改善槲皮素的峰形,与其

* 收稿日期: 2003-12-13

作者简介: 马洪波(1970-),男,工程师,毕业于黑龙江中医药大学中药学院,主要从事药品质量检验工作。Tel (0451) 84100252-1295



1-槲皮素 2-杜鹃素
1-quercetin 2-farrerol
图 1 混合对照品溶液 (A)和消咳喘糖浆 (B)的 HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A) and Xiaokechuan Syrup (B)

他成分很好的分离。在等度洗脱条件下,使用反相色谱柱时,槲皮素极性比杜鹃素大,因此保留相差很多,分析时间过长,不宜共同测定。采用梯度洗脱法,

能缩短杜鹃素的保留时间,且流动相比比例不变,基线平稳,不影响含量测定

用二极管阵列检测器对槲皮素和杜鹃素进行 200~ 400 nm 波长扫描,槲皮素在 202~ 395 nm 有吸收,最大吸收波长为 370 nm;杜鹃素在 202~ 390 nm 有吸收,最大吸收波长为 297 nm 槲皮素含量比杜鹃素高,槲皮素在 297 nm 吸收值较低,所以选择 297 nm 检测波长,两种成分都有吸收,且能缩小峰高差异

本实验方法简便、易行,定量结果准确,使在通常条件下采用不同流动相、不同检测波长、分别测定含量的两种成分能在同一台仪器上共同检测,缩短分析时间,节约试剂,提高工作效率,为消咳喘糖浆的质量控制提供了一种新的快速检测方法

References

[1] Pan X. Determination of farrerol, quercetin in *Rhododendron dauricum* by HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37(1): 862-864.
[2] Li H, Luo Z S, Niu F, et al. Determination of farrerol in leaves of *Rhododendron dauricum* and its preparation by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(2): 128-129.
[3] Yang Y J, Ren T C, Lei H M, et al. Determination of farrerol in Xiaokechuan Capsule by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(4): 340-341.

HPLC法测定羚羊感冒胶囊中牛蒡苷的含量

朱山寅¹, 睢凤英^{2*}

(1. 嘉兴市药品检验所, 浙江 嘉兴 314001; 2. 嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314001)

羚羊感冒胶囊由羚羊角、牛蒡子、淡豆豉、金银花等 10 味中药组成, 收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 6 册。具有清热解表之功效, 用于流行性感冒、伤风咳嗽、头晕发热、咽喉肿痛。现标准中尚无含量测定项目。牛蒡苷是牛蒡子的活性成分, 是本方有效成分之一。为了有效地控制羚羊感冒胶囊的质量, 本实验采用 HPLC 法测定制剂中牛蒡苷的含量, 方法操作简便、重复性好、结果准确

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters 510/484/745B 色谱

系统。牛蒡苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号 819-9801); 羚羊感冒胶囊由宁波立华制药有限公司生产, 批号: 000509 030103 030204, 制备阴性样品所用药材由浙江嘉信医药股份有限公司中药材分公司提供, 自制缺牛蒡子的阴性样品; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromasil C₁₈ 分析柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (30: 70); 体积流量: 1.0 mL/min; 测定波长: 280 nm; 柱温: 室温。

* 收稿日期: 2004-01-08

作者简介: 朱山寅 (1958-), 男, 浙江嘉兴市人, 副主任中药师, 主要从事中药的分析检验及药品质量控制的研究工作, 在专业杂志上发表科研论文 43 篇, 其中多篇论文获奖。Tel (0573) 2073235