

高效液相色谱法测定返魂草颗粒中绿原酸的含量

卫昌华*

(长春市中心医院, 吉林 长春 130051)

[摘要] 目的:应用高效液相色谱法测定返魂草颗粒中绿原酸的含量。方法:采用 Shim-pack(岛津) C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 乙腈-0.4% 磷酸水溶液(10.5: 89.5) 为流动相; 流速 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长为 327 nm。结果:绿原酸线性范围为(0.092~ 0.46) μg, $r = 0.999 8$, 回收率为 98.16%, RSD= 1.07%。结论:该方法操作简便、准确、灵敏,可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 绿原酸; 返魂草颗粒

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)04-0015-02

返魂草颗粒是由返魂草一味中药组成。具有清热祛痰,镇咳平喘。用于肺内感染,慢性支气管炎,喘息性支气管炎,急性呼吸道感染等。我们选择返魂草中绿原酸含量作为本品含量测定的成分指标。本文采用 HPLC 色谱法对返魂草颗粒中绿原酸进行含量测定,以便更好地控制产品的质量。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器; KQ-250 型超声波处理器; 绿原酸对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号: 0543-9901, HPLC 面积归一化法,测定含量为 98.98%); 返魂草颗粒(市售); 乙腈为色谱纯,产于美国。其它试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件^[1,2] 色谱柱为 Shim-pack-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.4% 磷酸水溶液(10.5: 89.5), 流速: 0.8 mL·min⁻¹, 紫外检测波长: 327 nm; 柱温: 30 °C。理论塔板数按绿原酸计算应不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品适量,置于棕色瓶中,以 50% 甲醇制成每 1 mL 含 25 μg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 袋,研细,取约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定重量,超声处理(功率 250 W, 频率 20

kHZ) 20 min, 取出,放冷,再称定重量,加 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,做为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备 由于返魂草颗粒是由单味药材返魂草制成,故取辅料蔗糖粉作为阴性样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL,注入液相色谱仪中,按色谱条件测定,结果表明,阴性对照色谱图中,与对照品相同保留时间处无干扰。

2.5 线性关系考察 精密吸取绿原酸对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL, 分别注入高效液相色谱仪中进行分析,以对照品进样量(μg)为横坐标,以对照品的峰面积为纵坐标,回归方程为: $Y = 1.99 \times 10^6 X - 5.51 \times 10^2$, $r = 0.999 8$, 结果表明绿原酸在(0.092~ 0.46) μg 间呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液连续 5 次重复进样,测得相对偏差 RSD= 0.73%。

2.7 稳定性试验 在制得供试品溶液后 0, 2, 4, 6 h, 分别精密吸取供试品溶液 10 μL, 测定。结果绿原酸峰面积的 RSD= 0.27%, 表明在 6 h 内供试品溶液的绿原酸含量稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品,按本文方法独立测定 5 次,样品中绿原酸含量 RSD= 1.07%, 结果表明其重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取绿原酸对照品适量,加入到已测知绿原酸含量的返魂草颗粒样品中,精密加入 50% 甲醇 100 mL, 制备供试品溶液,进样 5 μL, 测定峰面积,计算回收率,结果见表 1。

[收稿日期] 2007-08-24

[通讯作者] * 卫昌华, Tel: 13500821826; E-mail: jczhangwei@126.com

表 1 绿原酸回收率试验测定结果

样品取量 (g)	样品中 含量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)
2.001 2	2.415	2.58	4.954 6	98.43
2.035 6	2.457	2.51	4.912 8	97.84
2.045 6	2.469	2.48	4.934 0	99.40
2.098 5	2.533	2.41	4.859 4	96.53
2.063 1	2.490	2.44	4.895 7	98.59

$$\bar{X} = 98.16\% \quad RSD = 1.07\%$$

2.10 样品测定 按本文 2.2 与 2.3 项下分别制备对照品溶液和供试品溶液,按上述色谱条件,依法进样测定,共测定 3 批样品,结果绿原酸含量分别为 3.02, 3.34, 2.79(mg/袋)。

3 讨论

在试验过程中,曾采用回流提取、超声处理两种

制备供试品溶液方法,并进行了测定分析。结果均可使绿原酸提取完全,为了缩短检测时间,我们采用超声提取,制得供试品溶液。

在试验中,曾选用多种流动相进行试验,乙腈-0.4%磷酸水(12:88)、乙腈-0.4%磷酸水(9:91)等;最后选用正文所述的液相色谱条件,可使供试品得到较好分离,而被采用。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005. 153.
- [2] 蔡洁英,梁 晖,蔡松涛,等. 口炎清颗粒中绿原酸 HPLC 测定及其稳定性考察[J]. 现代中药研究与实践,2004, 18(3): 36-38.