

# 高效液相色谱法测定双贯感宁颗粒中绿原酸的含量

汪旭<sup>1</sup>, 金向群<sup>1\*</sup>, 睢诚<sup>2</sup>

(1. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021; 2. 中国药科大学, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定双贯感宁颗粒中绿原酸含量的方法。方法: 采用十八烷基键合硅胶色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.4% 磷酸溶液(13: 87)为流动相, 流速为 1.00 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 327 nm。结果: 绿原酸的线性范围为(0.04~ 0.37) μg ( $r = 0.9998$ ), 平均回收率( $n = 5$ )为 99.50% (RSD= 0.84%)。结论: 本方法简单、迅速、可靠。

[关键词] 高效液相色谱; 双贯感宁颗粒; 绿原酸

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)03-0022-02

## Determination of Chlorogenic Acid in Shuangguan Ganning Granule by HPLC

WANG Xu<sup>1</sup>, JIN Xiang-qun<sup>1\*</sup>, SUI Cheng<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy of Jilin University, Changchun 130021, China;

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determining chlorogenic acid in Shuangguan Ganning Granule. **Methods:** Diamonsil C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used as the stationary phase, the mixture of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (13: 87) was served as mobile phase, and its flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The wavelength for detection was 327 nm. **Results:** The linearity range was (0.04~ 0.37) μg ( $r = 0.9998$ ). The average recovery was 99.50% (RSD= 0.84%). **Conclusion:** The method is simple, fast and reliable.

[Key words] HPLC; Shuangguan Ganning Granule; chlorogenic acid

双贯感宁颗粒是由金银花、连翘、贯众、黄芩、酸浆、甘草 6 味中药组成, 具有疏散风热, 宣肺解表等功效, 用于发热、咽痛、鼻塞、流涕等症状的风热感冒。金银花为方中君药, 绿原酸是金银花中的主要有效成分。本实验采用高效液相色谱法对该制剂中的绿原酸进行含量测定, 为其建立质量标准提供了依据。

### 1 仪器与试剂

岛津 SPD-10A 高效液相色谱仪; LC-10AT 紫外检测器; KQ-250D 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品绿原酸(批号: 0753-200111) 购于中国药

品生物制品检定所(供含量测定用), 乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 以迪马公司钻石 C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱为色谱柱; 乙腈-0.4% 磷酸溶液(13: 87) 为流动相; 检测波长为 327 nm; 柱温 40 °C。理论板数按绿原酸(C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>) 峰计算应不低于 1 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取绿原酸对照品适量, 置棕色瓶中, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 40 μg 的溶液, 即得(10 °C 以下保存)。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末约 0.3 g 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 50% 甲醇 40 mL, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 用 50% 的甲醇定容至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 阴性对照溶液制备** 按照双贯感宁颗粒的制备工艺制备不含金银花的药粉, 按供试品溶液的制备

[收稿日期] 2007-07-09

[通讯作者] \* 金向群, Tel: (0431) 85619662; E-mail: jinxq@jlu.edu.cn

方法制成阴性对照品溶液。

**2.5 阴性干扰实验** 将配置好的对照品、供试品、及阴性对照溶液按上述色谱条件分别进样 10  $\mu\text{L}$ , 结果表明: 阴性样品在与绿原酸对照品相应的位置上 (14.466 min) 无干扰峰出现, 说明处方中其它药味对测定结果无影响。

**2.6 线性关系的考察** 精密称取绿原酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 40.6  $\mu\text{g}$  的溶液, 分别精密吸取该对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9  $\mu\text{L}$ , 分别注入液相色谱仪, 测定。以进样量为横坐标, 以峰面积值为纵坐标绘制标准曲线, 其回归方程为  $Y = 5.00 \times 10^6 X - 1.70 \times 10^4$ ,  $r = 0.9998$ , 结果表明: 绿原酸进样量在 (0.04~0.37)  $\mu\text{g}$  范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

**2.7 精密度考察** 取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 每次 10  $\mu\text{L}$ , 计算相对标准偏差, RSD 为 1.8%, 表明精密度良好。

**2.8 稳定性实验** 分别取放置 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 的供试品溶液, 测定绿原酸含量, 以考察其稳定性。RSD 为 1.4%, 表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

**2.9 重复性实验** 取双贯感宁颗粒适量, 6 份, 精密称定, 依法制备供试品溶液, 进行测定, 计算绿原酸含量的平均值为 5.856  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 为 2.9%, 表明重复性良好。

**2.10 加样回收实验** 精密称取绿原酸对照品适量, 加入到已测知绿原酸含量的双贯感宁颗粒 (绿原酸含量为 5.856  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 中, 按供试品溶液制备方法操作, 制备溶液, 测定绿原酸的含量, 计算回收率, 测定结果见表 1。

表 1 绿原酸回收率实验结果

取样量 (g)	样品中绿原酸 含量(mg)	对照品 加入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)
0.302 1	1.77	2.06	3.84	100.49
0.275 4	1.61	2.27	3.86	99.12
0.291 2	1.71	2.15	3.87	100.47
0.263 4	1.54	2.26	3.79	99.56
0.258 7	1.51	2.30	3.78	98.70
0.308 8	1.81	2.19	3.97	98.63
$\bar{x} = 99.50\%$		RSD= 0.84%		

**2.11 样品含量测定** 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪中, 测定了 3 批样品中绿原酸的含量分别为 5.90, 5.68, 6.01  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

金银花为双贯感宁颗粒的君药, 且金银花中绿原酸的含量较高, 以其作为含量测定的指标成分, 能够反映该制剂的质量, 因此, 本品以绿原酸的含量作为质量控制的指标是合理的。

对照品溶液和供试品溶液在常温下见光易分解, 如需要保存时间更长, 应置棕色瓶中 10  $^{\circ}\text{C}$  以下保存, 这样在液相色谱图上才不会出现分解产物的色谱峰, 含量测定结果才会准确可靠。

本文采用高效液相色谱测定双贯感宁颗粒中绿原酸的含量, 该方法简单, 专属性强, 重复性好, 可以作双贯感宁颗粒质量标准中的含量测定方法。

### [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. 152-153.