

# 高效液相色谱法测定复方咽痛消喷剂中绿原酸的含量

钟希文<sup>1</sup>, 吴燕红<sup>2\*</sup>

(1. 中山市中医院, 广东 中山 52000; 2. 广东药学院, 广东 广州 510224)

**[摘要]** 目的: 建立复方咽痛消喷剂中有效成分绿原酸高效液相色谱测定方法。方法: 采用 Kromasil C<sub>18</sub>(5 μm, 250 mm × 4.6 mm) 色谱柱; 以乙腈-0.4% 磷酸溶液为流动相, 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 327 nm。结果: 绿原酸的线性范围为 0.08~0.28 μg( $r = 0.999 0$ ); 平均加样回收率( $n = 6$ )为 102.3%, RSD 为 2.0%。结论: 测定方法简便可行、重复性好, 可用于本制剂中有效成分绿原酸含量测定。

**[关键词]** 复方咽痛消喷剂; 绿原酸; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)02-0014-02

复方咽痛消喷剂由金银花、冰片、薄荷脑等中药组成, 其中金银花为方中主药, 绿原酸为其主要活性成分, 具有清热解毒、利咽止痛的作用。绿原酸的含量测定方法很多, 如 2005 版中国药典一部<sup>[1]</sup> 采用 HPLC 法测定金银花中绿原酸含量, 也有文献[2] 采用聚酰胺薄膜除去杂质薄层扫描法测定绿原酸的含量, 结合本方组成特点, 本文采用 C<sub>18</sub> 固相萃取小柱纯化样品后采用 HPLC 法测定绿原酸的含量。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Dionex Summit 高效液相色谱仪(P680 HPLC Pump, ASF-100 Automated Sampled Injector, PDA-100 Photodiode Array Detector, UVD170U, SH585 Column Oven, Chromeleon 数据处理系统, high capacity C-18 小柱(Alltech, 1 mg/支), 实验室专用超纯水机(重庆利迪现代水技术设备有限公司)。

**1.2 试剂** 甲醇为色谱纯试剂(Merck 公司), 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯。

**1.3 样品** 复方咽痛消喷剂批号: (20050601 20050602 20050603 共 3 批), 由中山市中医院提供。

**1.4 对照品** 绿原酸(0730-9204) 对照品购自中国药品生物制品检定所。

## 2 实验方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Chromasil C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液洗脱, 检

测波长: 327 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C, 进样量: 10 μL; 理论塔板数按绿原酸计算应不低于 3 000, 在该色谱条件下, 绿原酸成分可达基线分离, 方中其它成分对测定无干扰。

**2.2 对照品溶液的配制** 精密称取绿原酸适量, 用 50% 甲醇溶解定容, 摇匀, 制成浓度为 0.02 mg/mL 的对照品储备溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 1 mL, 置蒸发皿中, 于水浴上蒸干, 残渣加 10% 甲醇的水溶液 1 mL 溶解, 将溶液加在已用 3 mL 10% 甲醇溶液活化的 Alltech high capacity C-18 小柱上, 再分别用 3 mL 10% 甲醇溶液将蒸发皿洗净, 收集洗脱液 4 mL, 用甲醇定容至 5 mL, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 滤液作为供试品溶液。

**2.4 供试品制备洗脱方法试验** 取同一批号(20050601) 样品 3 份各 1 mL, 置蒸发皿中, 于水浴上蒸干, 残渣加 10% 甲醇的水溶液 1 mL 溶解, 将溶液加在已用 3 mL 10% 甲醇溶液活化的 Alltech high capacity C-18 小柱上, 再分别用 4 mL 10% 甲醇溶液将蒸发皿洗净, 每 1 mL 收集一次洗脱液, 用甲醇定容至 2 mL, 作为供试品溶液, 考察洗脱液收集的体积量。结果显示, 收集洗脱液 8 mL, 第 5 mL 已检测不到绿原酸, 确定收集洗脱液体积为 4 mL。

**2.5 阴性对照溶液的配制** 取处方中除金银花外的其余成分按制剂工艺制成缺金银花阴性对照溶液, 按 2.3 项下的供试品制备方法处理得缺金银花阴性对照液, 精密吸取溶液 10 μL, 测定, 结果阴性对照液在绿原酸对照品相同保留时间位置上未见色

**[收稿日期]** 2006-06-14

**[通讯作者]** \* 吴燕红, Tel: (020) 39352541; E-mail: lzqyhlz1@yahoo.com.cn

谱,说明无干扰,见图1。

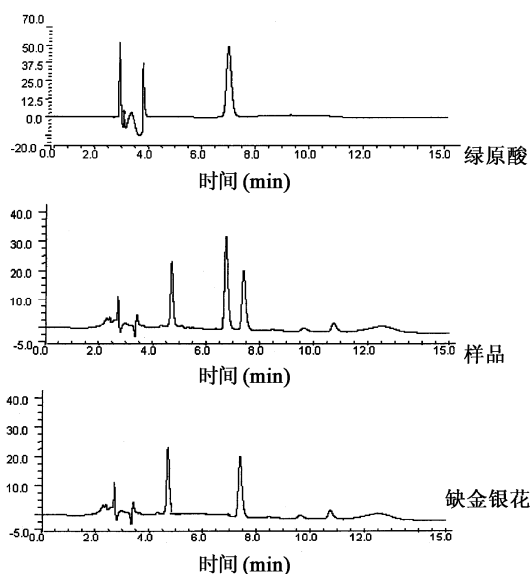


图1 绿原酸的HPLC色谱图

**2.6 线性范围的考察** 分别精密吸取对照品溶液4, 6, 8, 10, 12, 14  $\mu\text{L}$  进行色谱测定,按上述色谱条件测定峰面积,以进样量( $X, \mu\text{g}$ )对峰面积( $Y, \text{A}$ )进行线性回归,回归方程为  $Y = 2\,529.7X + 11.583$ ,线性范围0.08~0.28  $\mu\text{g}$ ,相关系数  $r = 0.9995$ 。结果表明绿原酸的线性关系良好。

**2.7 精密度试验** 精密吸取对照品溶液8  $\mu\text{L}$  重复进样6次,测得绿原酸峰面积积分平均值为416.17, RSD为1.1%,结果表明分析方法精密度良好。

**2.8 稳定性试验** 取同一对照品溶液8  $\mu\text{L}$  按上述色谱条件分别在0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定,测得绿原酸峰面积积分平均值为415.62, RSD为1.8%,结果显示10 h 内基本稳定。

**2.9 重复性试验** 按拟定的含量测定方法,对同一批样品制备供试液,平行做6份,测得绿原酸峰面积并计算含量,绿原酸平均含量为0.5697 mg/mL, RSD为2.4%。

**2.10 回收率试验** 精密量取已知含量的咽痛消喷剂(20050601)1 mL,分别精密加入一定量的绿原酸对照品,按供试品溶液制备项下操作,平行操作6份,按色谱条件测定含量,计算回收率,结果见表1。

表1 绿原酸回收率测定结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 $\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.586 0	0.900 8	1.486 1	99.91	102.3	2.0
0.586 0	0.900 8	1.535 8	105.44		
0.586 0	0.900 8	1.513 6	102.98		
0.586 0	0.900 8	1.501 9	101.68		
0.586 0	0.900 8	1.485 5	99.85		
0.586 0	0.900 8	1.524 2	104.15		

**2.11 样品测定** 取批号为(20050601, 20050602, 20050603)样品各1 mL,按2.3项下的供试品制备方法操作,制备供试品溶液,供试品溶液用0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,即得样品供试液。分别精密吸取对照品溶液与样品供试液各10  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件测定,3个批号样本绿原酸含量依次为(0.568  $\pm$  0.015, 0.549  $\pm$  0.012, 0.561  $\pm$  0.021) mg/mL ( $n = 3$ )。

### 3 讨论

本实验曾采用药典方法提取样品,但不能排除方中其他成分对绿原酸色谱峰的干扰,利用 $\text{C}_{18}$ 固相萃取小柱纯化样品,可排除干扰,绿原酸色谱峰达到基线分离,对称性好,理论塔板数均在5 000以上,本方法具有操作简单、灵敏度高、重复性好,结果准确可靠的优点,因此可用于复方咽痛消中有效成分绿原酸的含量测定。

由于各批次原药材的有效成分绿原酸的含量差异,引起成品含量波动变化,提示应控制原药材的质量。

### [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,2000. 3-4, 148-149, 204-205, 273-274.
- [2] 周志锦. 金银花及其制剂中绿原酸的含量测定[J]. 浙江中医学院学报,2002,26(4):82.