

高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量

李成网

(安徽省医学科学研究所, 安徽 合肥 230061)

摘要: 目的: 运用高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量。方法: 采用 Hypersil C₁₈ 柱, 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺 (15: 85: 1: 0.2) 为流动相, 检测波长为 324nm。结果: 绿原酸的回收率为 98.12%, RSD= 0.97% ($n=5$)。结论: 本法简便、快速、重复性好, 可作为制剂的定量分析方法。

关键词: 绿原酸; 银翘解毒颗粒; 高效液相色谱

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)05-0003-02

Determination of Chlorogenic Acid in Yinqiaojiedu Granules by HPLC

LI Cheng-wang

(Anhui Institute of Medical Science, Hefei 230061, China)

Abstract: Objectives: To determine the content of chlorogenic acid in Yinqiaojiedu Granules by HPLC. Method: The analysis was performed on an hypersil C₁₈ column, with a mobile phase of methanol-water-acetic acid-triethylamine (15: 85: 1: 0.2), the detection wavelength was 254nm. Result: Recovery of chlorogenic acid was 98.12% RSD= 0.97% ($n=5$). Conclusion: This method is simple and reproducible, and it can be used for the quantitative analysis of chlorogenic acid in Yinqiaojiedu Granules.

Key words: Chlorogenic acid; Yinqiaojiedu Granules; HPLC

银翘解毒颗粒为中国药典 2000 年版一部收载的品种, 由金银花、连翘、薄荷、荆芥等 9 味中药组成, 具有辛凉解表、清热解毒之功效。用于风热感冒, 发热头痛, 咳嗽, 口干, 咽喉疼痛。药典标准中仅收载了 TLC 鉴别方法, 未收载含量测定方法。本文选择了方中君药金银花中的成分绿原酸作为指标成分, 建立了银翘解毒颗粒中绿原酸的含量测定方法, 为该药的质量控制提供了定量评价方法。

1 仪器与试剂

Waters 600 型液相色谱仪(美国); UV996 检测器

(美国); 绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所); 银翘解毒颗粒(安徽精方药业有限公司); 实验试剂均为分析纯或色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS 250×4.6mm; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(15: 85: 1: 0.2); 检测波长: 324nm; 柱温: 30℃; 流速: 1mL/min。在此条件下, 样品中绿原酸与其它组分能达到基线分离, 阴性对照无干扰。见图。

2.2 对照品溶液制备 精密称取对照品适量, 置棕色量瓶中, 加流动相制成每 1mL 含 0.02mg 的溶液, 即得(10℃以下保存)。

2.3 供试品溶液的制备 取本品, 研细, 精密称取

收稿日期: 2003-09-11

基金项目: 安徽省优秀青年科技基金(04043055)

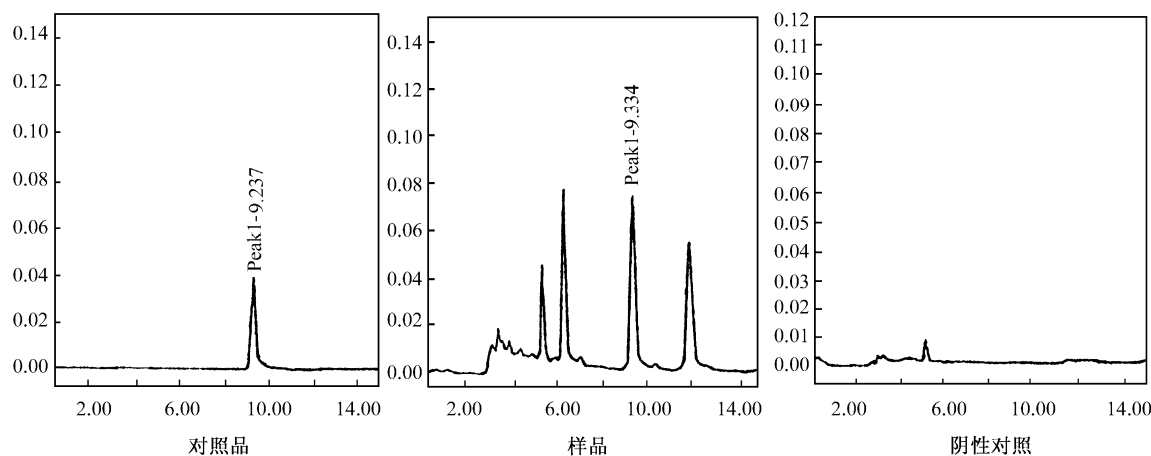


图 银翘解毒颗粒 HPLC 色谱图

1.0g, 置 50mL 量瓶中, 加水约 45mL 超声处理 30min, 放冷至室温, 加水至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45 μ m) 滤过, 即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 取缺金银花的阴性制剂, 按供试品溶液制项下的方法制备。

2.5 线性关系考察 精密吸取绿原酸对照品溶液(0.07308mg/mL) 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL, 分别置 10mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀。分别吸取 10 μ L, 依次注入液相色谱仪, 以绿原酸浓度为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $A = 43254C - 24348$ 。 $r = 0.9996$, 结果表明绿原酸在 7.308 μ g/mL ~ 36.540 μ g/mL 范围内具有良好的线性关系。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液, 按供试品测定方法, 每隔 1h 进样 20 μ L, 连续进样 5 次, 结果表明在 5h 内绿原酸的峰面积值基本稳定, RSD 为 1.34%。

2.7 精密度试验 取供试品溶液, 连续进样 5 次, 进样量相同, 按上述色谱条件测定吸收峰面积值, 峰面积值基本稳定, RSD 为 0.30%。

2.8 重复性试验 依法取同一样品, 按样品测定方法项下, 进行 5 次平行试验, 结果表明本法重复性较好, RSD 为 0.82%。

2.9 加样回收率试验 按样品测定方法项下, 精密称取已知含量的样品, 分别加入一定量的绿原酸对照品, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果表明本法具有良好准确性, RSD 为 0.97%, 结果见表 1。

2.10 样品的测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液 20 μ L, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算绿原酸含量, 结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

序 号	样品中含绿原酸量(mg)	添加绿原酸量(mg)	测量绿原酸量(mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.6335	0.5825	1.2076	98.56		
2	0.5656	0.5825	1.1426	99.06		
3	0.5436	0.5825	1.1103	97.29	98.12	0.97
4	0.6538	0.5825	1.2291	98.76		
5	0.5540	0.5825	1.1186	96.93		

表 2 样品中绿原酸含量 (n=3)

批号	011201	011203	011205
绿原酸含量(mg/g)	1.0241	0.9630	0.9851
RSD (%)	1.55	0.98	1.21

3 讨论

3.1 本实验在参考文献的基础上^[1] 曾采用甲醇及 50% 甲醇为溶剂, 试验结果表明, 绿原酸与其它相关成分不能达到基线分离, 采用水为溶剂基线分离较好。

3.2 供试品溶液的制备的采用超声提取, 分别对提取时间 10、20、30、40min 进行考察, 结果超声提取 30min 为佳。

3.3 由于绿原酸对照品配制成溶液后, 在室温条件下放置不稳定、易分解, 而放置于 10℃ 以下的冰箱中保存则较为稳定, 从而提高了分析结果的准确性。

参考文献:

- [1] 陈志清. HPLC 法测定无花果含片中绿原酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(3): 200.