

HPLC 法测定银翘解毒丸中绿原酸的含量

史建玲, 张春雨¹, 贾惠娟² (新疆博州药品检验所, 博乐 833400; ¹ 博州质量与计量检测所; ² 新疆农业大学农学院)

摘要: 采用反相高效液相色谱法测定银翘解毒丸中绿原酸的含量。采用 Diamonsil (钻石) C₁₈ 色谱柱; 流动相为甲醇-0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠 (40:60); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 324 nm; 绿原酸在 0.0359~0.718 μg 范围内, 与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.9998$); 平均回收率为 98.43%, RSD=1.04% ($n=5$)。本方法简便、准确、重现性好, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: HPLC; 绿原酸; 银翘解毒丸

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2008) 09-0806-02

Determination of Chlorogenic Acid in Yinqiao Jiedu Wan by HPLC

Shi Jianling, Zhang Chunyu¹ and Jia Huijuan² (Bozhou Institute for Drug Control, Xinjiang A utonomous Region, Bole 833400; ¹Bozhou Institute for Quality and Measuring Control; ²Xinjiang Agricultural University)

ABSTRACT A HPLC method was established for the determination of chlorogenic acid in Yinqiao Jiedu Wan by HPLC. A Diamonsil C₁₈ column was used with methanol-0.2 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ (40:60) as mobile phase. The detecting wavelength was 324 nm. The linear range was 0.0359~0.718 μg ($r=0.9998$) and the average recovery was 98.43%, RSD=1.04% ($n=5$). The method is simple, accurate and reproducible. It can be used in the quality control of this preparation.

KEY WORDS HPLC; chlorogenic acid; Yinqiao Jiedu Wan

银翘解毒丸为常用中成药, 收载于《中国药典》^[1] 2005 年版一部, 未制定含量测定方法。为有效控制产品质量, 保证临床用药安全有效, 本文建立了反相高效液相色谱法测定银翘解毒丸的主药金银花中绿原酸含量, 方法简便、准确、重现性好。

1 仪器与试药

8810 型高效液相色谱仪 (美国 SP 公司); SP100 型紫外检测器; HW 色谱工作站 (HW-2000); AE240 型电子天平 (瑞士梅特勒); 绿原酸 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 110753-200413); 甲醇为色谱纯; 水为纯化水; 其余试剂均为分析纯; 银翘解毒丸 (市售药品: 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号: 5030810; 西安正大制药有限公司, 批号: 060305; 河北药都制药集团股份有限公司, 批号:

050319)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil (钻石) C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μ); 流动相: 甲醇-0.2 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠 (40:60); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 324 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μL。绿原酸理论板数为 4055, 分离度为 3.7。

2.2 对照品溶液制备 精密称取绿原酸对照品 3.59 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 3 g, 研细, 精密称取 0.5 g, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加 50% 甲醇 40 mL, 超声处理 20 分钟, 放冷, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。

2.4 空白实验 按银翘解毒丸的制法, 制成不含金银花的阴性样品, 并按供试品溶液的制备方法制

备阴性对照溶液，分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液按上述色谱条件进行测定，结果

见图 1，阴性对照液在与绿原酸相应保留时间处无色谱峰出现，表明阴性样品无干扰。

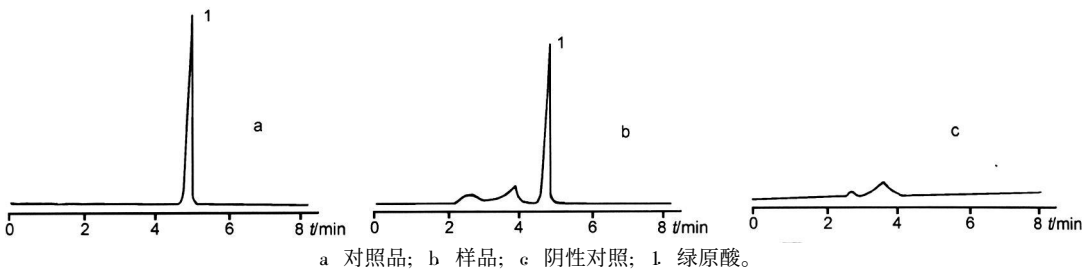


图 1 银翘解毒丸 HPLC 色谱图

2.5 线性关系测定 精密量取对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20μL 分别进样，按上述色谱条件进行测定，以峰面积为纵坐标，进样量 (μg) 为横坐标，进行线性回归，绿原酸的回归方程：

$$Y = 1.5 \times 10^5 X + 1.3374 \times 10^3 \quad r = 0.9998$$

表明绿原酸在 0.0359~0.718μg 范围内，与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取对照品溶液，重复进样 5 次，按峰面积计算，绿原酸的 RSD 为 0.59%。

2.7 重复性试验 取同一批供试品 5 份，分别精密称定，按供试品溶液制备方法制备并测定，结果绿原酸的平均含量为 3.076mg·g⁻¹，RSD 为 0.12%。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液分别在 0, 8, 16, 24 小时测定绿原酸含量，4 次测定绿原酸峰面积的 RSD 为 1.24%，说明供试品溶液在 24 小时内稳定。

2.9 回收率试验 分别精密称取已知含量的样品 (批号：5030810 绿原酸含量为 3.0762mg·g⁻¹) 6 份，每份 0.25g，分别加入对照品 0.75mg，按供试品溶液制备方法制成供试液。按上述色谱条件测定，计算回收率，结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 (n=5)

样品中的 含量 (mg)	加入对照 品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.7752	0.75	1.5188	99.17		
0.7746	0.75	1.5046	97.42		
0.7681	0.75	1.5002	97.67	98.43	1.04
0.7715	0.75	1.5170	99.42		
0.7739	0.75	1.5045	97.41		
0.7718	0.75	1.5178	99.48		

2.10 样品测定 精密吸取供试品溶液 10μL，按上述色谱条件测定 3 批样品，以外标法计算，测定结果见表 2。

表 2 不同厂家银翘解毒丸中绿原酸含量测定结果

厂家	批次	含量 (mg·g ⁻¹)	平均值 (mg·g ⁻¹)	RSD (%)
北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂	5030810	3.0729	3.0762	0.17
		3.0823		
		3.0733		
西安正大制药有限公司	060305	0.4261	0.4272	0.43
		0.4293		
		0.4263		
河北药都制药集团股份有限公司	050319	1.7144	1.7260	1.15
		1.7489		
		1.7146		

3 讨论

不同厂家生产的银翘解毒丸中绿原酸的含量相差较大，原因可能主要有下述两种：厂家少投料、投次料；工艺过程中造成绿原酸不同程度的损失。

笔者将样品分别超声提取 20, 30, 40 分钟，其含量测定结果 RSD 为 0.38%，表明 20 分钟超声提取即可使绿原酸提取完全，故选择提取时间为 20 分钟。

实验过程中采用乙腈-0.4% 磷酸溶液 (13:87)^[2]、乙腈-0.4% 磷酸溶液 (10:90)^[3]、甲醇-0.05% 磷酸水溶液^[4] 与本文采用的流动相进行了对比，结果本文的流动相分离效果最好。

本方法简便、准确、重现性好，可用于该制剂的质量控制，建议药典对该制剂增加绿原酸的含量测定。

参考文献：

[1] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 600
[2] 谭贤英, 曾卫阳, 黄剑荣. 高效液相色谱法测定解毒清咽茶剂中绿原酸的含量 [J]. 中国药事, 2007, 21 (1): 48
[3] 高尚峰, 马春海. 高效液相色谱法测定小儿咳喘灵口服液绿原酸的含量 [J]. 中国药事, 2007, 21 (3): 187
[4] 曹红, 祝业. HPLC 法同时测定双黄连口服液绿原酸和黄芩苷的含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8 (2): 43