

HPLC测定柔肝解毒胶囊中的绿原酸

熊茉君¹, 毛兴荣², 张敏³, 汪宏¹

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 四川奇力制药有限公司, 四川 成都 610041; 3. 四川大学财务处, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 采用 HPLC法测定柔肝解毒胶囊中的绿原酸。方法 采用 Diamonsil C₁₈色谱柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 0.4% 磷酸溶液 (10: 90), 柱温为室温, 流速 1.2 mL·min⁻¹, 检测波长 327 nm。结果 回归方程为: $Y = 3.031 \times 10^3 X + 1.042 \times 10^4$ ($r = 0.9998$), 绿原酸 90~800 ng 与峰面积的线性关系良好, 平均回收率为 100.8%, $RSD = 1.08%$ ($n = 6$), 精密度和重复性的 RSD 分别为 0.41%、1.31%。结论 所建方法分离效能高、灵敏准确、重复性好, 可作为质控方法。

关键词: 柔肝解毒胶囊; 绿原酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2010)06-0746-02

Determination of chlorogenic acid in Rougan Jiedu capsules by HPLC

XIONG Mo-jun¹, MAO Xing-rong², ZHANG Min³, WANG Hong¹

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China; 2. Sichuan Qili Pharmaceutical Co. Ltd, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China; 3. Financial Department, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China)

Abstract **OBJECTIVE** To establish a method for determination of chlorogenic acid in Rougan Jiedu capsules by HPLC. **METHODS** Diamonsil C₁₈ column was used with acetonitrile-0.4% phosphoric acid (10:90) as the mobile phase at flow rate of 1.2 mL·min⁻¹. The column temperature was room temperature and detection wavelength was set at 327 nm. **RESULTS** The linear equation of chlorogenic acid was $Y = 3.031 \times 10^3 X + 1.042 \times 10^4$ ($r = 0.9998$), with the average recovery of 100.8% ($RSD = 1.08%$, $n = 6$). The RSD s of precision and repeatability were 0.41%, 1.31%, respectively. **CONCLUSION** This method is sensitive, accurate and reproducible. It can be used as the quality control method of Rougan Jiedu capsules.

Key words Rougan Jiedu capsules; Chlorogenic acid; HPLC

CLC number: R917 **Document code:** A **Article ID:** 1006-0103(2010)06-0746-02

柔肝解毒胶囊是由茵陈、红参、枸杞子、麦冬、女贞子等十四味中药加工制成的复方制剂, 为其口服液的改剂型产品, 具有柔肝健脾、清热解毒的功效^[1]。原标准对君药茵陈有效成分绿原酸的含量测定方法, 分离度不佳, 取样量过小, 致实验误差较大^[1]。为更好地控制新剂型的质量, 参照文献^[2-4], 采用 HPLC 法测定柔肝解毒胶囊中的绿原酸。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10AT_{VP} 高效液相色谱仪 (日本岛津)。绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-200822); 柔肝解毒胶囊 (四川奇力制药有限公司); 乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为迪马 Diamonsil C₁₈柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 0.4%

磷酸溶液 (10: 90); 检测波长 327 nm; 流速 1.2 mL·min⁻¹; 柱温为室温。在此条件下, 样品中绿原酸与其他组份获得了良好的分离效果, 绿原酸峰 $t_R = 13.9$ min (图 1)。

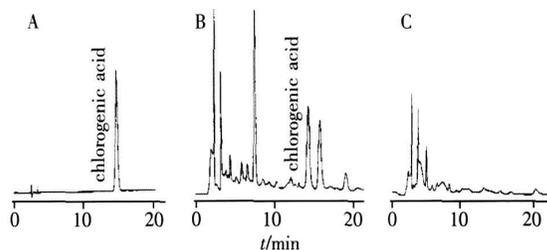


图 1 对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性对照品 (C) 溶液的色谱图
Fig 1 Chromatogram of control solution (A), sample solution (B) and negative control solution (C)

1.2.2 溶液的制备 精密称取 11.5 mg 绿原酸对照品置 25 mL 量瓶中, 加适量甲醇溶解并定容, 即得 0.46 mg·mL⁻¹ 对照品溶液 I; 精密吸取 1 mL 对照品溶液稀释至 10 mL 量瓶中, 得 0.046 mg·mL⁻¹ 对

照品溶液 II。取约 1.2 g 柔肝解毒胶囊内容物, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50 mL 甲醇, 密塞, 摇匀, 称定重量, 超声处理 30 min 取出, 放冷, 再称定重量, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。按处方量取茵陈的其他药材, 依供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照液。

1.2.3 线性关系的考察 分别取 2.5 & 10 & 12 & 15 & 18 μL 绿原酸对照品溶液 II, 在“1.2.1”项条件下进样, 测定其峰面积。以绿原酸峰面积值为纵坐标、进样量 (ng) 为横坐标进行回归, 其回归方程为: $Y = 3.031 \times 10^3 X + 1.042 \times 10^4$ ($r = 0.9998$)。绿原酸 90~800 ng 与峰面积之间呈良好的线性关系。

1.2.4 精密度试验 精密吸取 10 μL 对照品溶液 II, 重复进样 6 次, 测得绿原酸对照品峰面积的 $RSD = 0.41\%$, 精密度良好。

1.2.5 重复性试验 分别取 1.2 g 同一批样品 5 份, 精密称定, 按“1.2.1”项方法平行测定。计算绿原酸的平均含量为 $1.5591 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $RSD = 1.31\%$ ($n = 5$), 表明提取和检测方法重复性较好。

1.2.6 稳定性试验 分别于 0.2 & 4 & 6 & 12 h 时, 精密吸取 10 μL 低温避光保存^[2]的绿原酸对照品液 II 进样, 其峰面积的 $RSD = 0.84\%$ 。另取样品, 按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液, 同法进样, 其峰面积的 $RSD = 1.02\%$ 。结果表明: 对照品和供试品溶液均在 12 h 内稳定。

1.2.7 加样回收率试验 分别取 0.6 g 已知绿原酸含量的样品 ($1.5606 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 6 份, 精密称定, 分 3 组 (每组 2 份), 各组中分别加入 1.2 & 3 mL 绿原酸对照品溶液 I ($0.46 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 混匀后按“1.2.1”项下方法测定绿原酸的含量, 结果见表 1。

1.2.8 样品的测定 取 3 个批号的产品, 按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取 10 μL 对照品 II 与供试品溶液, 依“1.2.1”项下色谱条件测定。各批含量分别为 1.5562、1.6113、1.5254 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.18%、1.06%、0.96%。

表 1 回收率的测定结果 (mg n = 6)

Table 1 The results of recovery test (mg n = 6)

Original	Added	Detected	Recovery/%	\bar{X} /%	RSD/%
0.9376	0.4600	2.0448	100.84	100.86	1.08
0.9396	0.4600	2.0417	102.65		
0.9432	0.9200	2.8054	101.34		
0.9382	0.9200	2.8016	100.72		
0.9466	1.3800	3.4343	99.43		
0.9410	1.3800	3.4713	100.21		

2 讨论

曾对 1.2 g 样品用 40 mL 甲醇超声振荡提取 30 min 过滤后, 滤渣和滤纸再用 40 mL 甲醇超声振荡提取 30 min 将两次滤液转移至 100 mL 量瓶中, 用 20 mL 甲醇洗涤沉淀和滤纸, 洗液并入滤液; 对第二次滤出的沉淀用甲醇提取后作 HPLC 分析, 证明其中确已无绿原酸。此法与文中提取方法测得的绿原酸含量相同, 但此法操作烦琐, 文中方法更为简便、可行。为满足绿原酸峰与相邻成分峰有足够分离度的前提下, 适当缩短绿原酸峰的保留时间, 实验逐一比较了柱温 25 °C 时, 乙腈 - 0.4% 磷酸溶液 (9.5:10.5)、(10:90)、(11:89)、(27:73) 流动相系统对柔肝解毒胶囊中绿原酸与相邻成分的分度与保留时间的影响^[3-4], 发现乙腈 - 0.4% 磷酸溶液为 10:90 时能保证所测 3 个批号样品中的绿原酸与相邻成分峰的分度都达到 1.5 以上, 且保留时间合适, 峰形对称而尖锐 (拖尾因子在 1.00~1.05 之间); 理论板数以绿原酸峰计均在 2×10^3 以上。

参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 药品标准散件 (试行) 2002[S]. WS-5593(B-0539).
- [2] 张丹, 李章万, 姜炎. HPLC 测定金银花、茵陈及其 10 种中成药中绿原酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 1996, 16(2): 83-85
- [3] 柯发敏, 徐宇, 郭敏, 等. 咽炎含片中三种药材的鉴定及绿原酸的含量测定 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(2): 190-191
- [4] 赖玉菡, 王曙. HPLC 测定通关藤中绿原酸的含量 [J]. 华西药学杂志, 2006, 21(1): 79-81.

收稿日期: 2010-01-10