

HPLC 测定清胰利胆颗粒中绿原酸

夏莲¹, 陈卫卫^{2*}

(1. 广西北海食品药品检验所, 广西 北海 536000; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立清胰利胆颗粒中绿原酸的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱 welchrom-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 乙腈-0.1% 磷酸 (9:91) 为流动相, 检测波长 327 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C。结果: 绿原酸含量在 0.303 5 ~ 1.517 5 μg 线性关系良好 ($r=0.999 7$), 平均回收率为 97.3% (RSD 1.9%)。结论: 本法操作简便、可靠, 可用于清胰利胆颗粒的质量控制。

[关键词] 清胰利胆颗粒; 高效液相色谱法; 绿原酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0101-03

Determination of Content of Chlorogenic Acid in Qinyi Lidan Granules by HPLC

XIA Lian¹, CHEN Wei-wei^{2*}

(1. Beihai Institute for Food and Drug Control of Guangxi, Beihai 536000, China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of the content of chlorogenic acid in Qinyi Lidan granules by HPLC. **Method:** A HPLC method was used with welchrom C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (9:91). The UV detector wavelength was at 327 nm. The flow rate was 1 mL·min⁻¹. The temperature of the column was at 35 °C. **Result:** The calibration curve of chlorogenic acid was linear within the range of 0.303 5-1.517 5 μg ($r=0.999 7$). The average recovery was 97.3% (RSD 1.9%). **Conclusion:** The method is simple, convenient and reliable. It is appropriate for the content determination of the preparation.

[Key words] Qinyi Lidan granules; HPLC; chlorogenic acid

清胰利胆颗粒是由牡蛎、金银花等多味中药组成, 收载于《卫生部药品标准》中药成方剂第 4 册^[1], 具有行气解郁、活血止痛、舒肝利胆、解毒通便之功效, 用于治疗急性胰腺炎、急性胃炎等症, 临床上应用广泛。目前, 尚未见清胰利胆颗粒质量标准的相关报道。本文采用 HPLC 测定了制剂中金银花中

绿原酸的含量, 方法简便、可靠, 重复性好, 可用于清胰利胆颗粒的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); LG16-W 离心机 (北京医用离心机厂); SHZ-D III 予华牌循环水真空泵 (巩义市英峪予华仪器厂); BP211D 电子天平; BS224S 电子分析天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); SB5200DT 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); 色谱柱 welchrom C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) (美国月旭公司)。

1.2 试剂 绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110856-0701); 甲醇、乙腈为色谱纯 (天津

[收稿日期] 20101219(001)

[第一作者] 夏莲, 工程师, 学士, 从事药品、食品检验工作, Tel: 13977951908, E-mail: 1770@163.com

[通讯作者] * 陈卫卫, 副教授, 硕士, 硕导, 研究方向: 药物新剂型、新制剂的研发, Tel: 13211355569, E-mail: 630893310@qq.com

四友公司),磷酸为分析纯;清胰利胆颗粒(吉林巨人堂药业股份有限公司,批号 080306,080503,081001)和阴性颗粒(自制)。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择 根据《中国药典》^[2]和相关文献报道^[3-40],并且通过绿原酸的 UV 紫外光谱扫描,最终选择 327 nm 为测定波长。

2.2 色谱条件与系统适应性 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-0.1% 磷酸(9:91),检测波长 327 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,理论塔数按绿原酸峰计算应不低于 3 000。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,制成 0.303 5 g·L⁻¹的对照品溶液,即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品 20 g,研细,取约 0.5 g 药粉,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,加入甲醇 30 mL,加热回流 30 min,过滤,水浴上挥去甲醇适量,残留液转移至 5 mL 量瓶中,定容,摇匀,即得。

2.3.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除金银花外的其他药材,制成缺金银花的阴性对照颗粒,并根据 2.3.2 的方法制成阴性对照溶液。

2.3.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照液各 10 μL,注入高效液相色谱仪进行测定。结果表明,绿原酸与其他峰分离良好,阴性无干扰。结果见图 1。

2.4 线性关系的考察 精密吸取浓度为 0.303 5 g·L⁻¹绿原酸对照品溶液 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释到刻度,摇匀,配成浓度为 30.35,60.7,91.5,121.4,151.75 mg·L⁻¹的对照品溶液,再精密量取各对照品溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图。以峰面积为纵坐标、绿原酸的浓度(mg·L⁻¹)为横坐标,得回归方程为 $Y = 32.037 865X + 26.500 875$ ($r = 0.999 7$)。结果表明,绿原酸进样量在 0.303 5 ~ 1.517 5 μg 与对照品色谱峰面积呈现良好线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取浓度为 91.5 mg·L⁻¹的绿原酸对照品溶液 10 μL,按上述色谱条件重复进样 5 次,每次进样 10 μL,测得平均峰面积为 2 999.98, RSD 1.98%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取清胰利胆颗粒细粉(批号

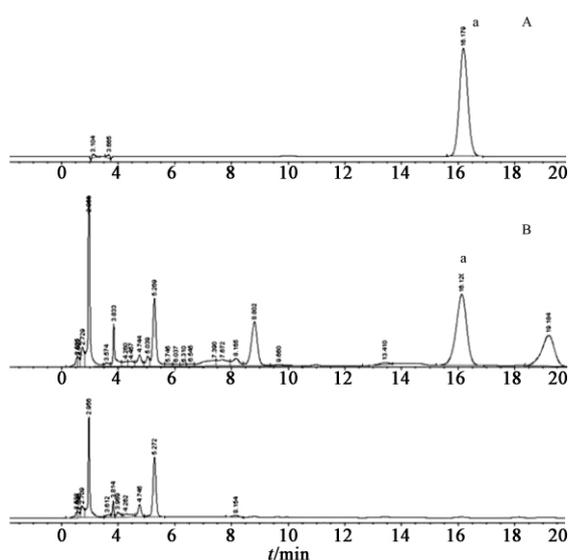


图 1 绿原酸对照品(A)、供试品溶液(B)、
阴性对照(C) HPLC
a. 绿原酸

081001) 5 份,分别按供试品溶液制备项下的方法制备供试品溶液,测得绿原酸的平均质量分数为 0.678 6 mg·g⁻¹, RSD 2.53%。

2.7 稳定性试验 取 2.6 项下的供试品溶液,分别在制备后 0, 2, 4, 8, 12 h 进样 10 μL,结果绿原酸峰面积的 RSD 为 2.85%,表明了供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收试验 取已知含量的清胰利胆颗粒细粉(批号 081001) 5 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别精密加入浓度为 0.303 5 g·L⁻¹绿原酸对照品溶液 0.5 mL,按上述供试品溶液的制备方法和色谱条件测定,结果平均回收率为 97.3%, RSD 1.9%。见表 1。

表 1 绿原酸加样回收率试验 (n = 5)

No.	称样量 /g	样品中量/mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 %	平均值 /%	RSD /%
1	0.245 4	0.166 5	0.151 7	0.311 2	95.4		
2	0.249 6	0.169 4	0.151 7	0.320 3	99.5		
3	0.250 7	0.170 1	0.151 7	0.315 8	96.0	97.3	1.9
4	0.252 1	0.171 1	0.151 7	0.321 5	99.1		
5	0.253 7	0.172 2	0.151 7	0.318 9	96.7		

2.9 样品含量测定 取 3 批(批号 080306, 080503, 081001) 样品,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定绿原酸的含量,结果见

表 2。

表 2 样品中绿原酸含量测定结果 ($n=3$)

批号	绿原酸/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	平均值/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
080306	0.722 9		
080503	0.670 8	0.695 9	2.65
081001	0.694 0		

3 讨论

选择流动相时,曾采用《中国药典》^[2]中的乙腈-0.4%磷酸系统,其绿原酸峰形虽好,但该流动相系统酸度较大,对色谱柱损伤较大。之后参考文献^[3-10],并经过预试,采用乙腈-0.1%磷酸作为流动相时,分离效果与乙腈-0.4%磷酸系统分离效果相当,故选择乙腈-0.1%磷酸系统作为本试验的流动相。

在制备供试品溶液时,曾对比了超声法和回流法、乙醇和甲醇提取对供试品制备的影响。结果表明,甲醇和乙醇的提取效果无明显差异,但乙醇提取的杂质较多,因此采用甲醇作为供试品的提取试剂;超声法制备供试品虽然比回流法简便快捷,但其绿原酸的提取量仅约为回流法提取量的80%,故决定采用回流法作为本试验的供试品的制备方法。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部. 中药成方制剂. 第4册[S].

北京:人民卫生出版社,1991:186.

- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:205.
- [3] 许谔,赵振华. HPLC法测定小儿咽扁颗粒中绿原酸的含量[J]. 海峡药学,2008,20(7):67.
- [4] 吴梅青,刘佳佳. 高效液相色谱法测定小儿咽扁颗粒中绿原酸的含量[J]. 黑龙江医药科学,2007,30(6):17.
- [5] 张忠春,管玉民,王官连. HPLC法测定金银花中绿原酸[J]. 山东中医杂志,1999,18(7):324.
- [6] 王彩芳,黄龙,程茜,等. 高效液相色谱法测定不同厂家银黄颗粒中绿原酸的含量[J]. 时珍国医国药,2007,18(5):632.
- [7] 王海宁. HPLC测定感冒咳嗽颗粒中绿原酸的含量[J]. 首都医药,2008,15(16):49.
- [8] 卢金清,詹晓莲,徐玉婷. 高效液相色谱法测定银芍颗粒中绿原酸的含量[J]. 时珍国医国药,2008,19(8):1998.
- [9] 黄平权,梁峰,黄燕萍. 维C银翘颗粒中绿原酸的HPLC测定[J]. 中国医药工艺杂志,2004,35(8):494.
- [10] 刘恩荔,李青山. 高效液相色谱法测定金银花有效部位中绿原酸的含量[J]. 山西医科大学学报,2006,37(2):166.

[责任编辑 蔡仲德]

简 讯

据中国高等学校自然科学学报研究会、中国科学技术期刊编辑学会2009年统计结果报道,2008年《中国实验方剂学杂志》登载的学术论文中,有224篇被美国化学文摘(CA)收录,标志着《中国实验方剂学杂志》已成为CA在国内的主要统计源期刊之一,也标志着该杂志的学术水平又迈上了一个新台阶。

在此,谨向热心于《中国实验方剂学杂志》审稿、组稿工作的人员表示衷心感谢,向各学术论文作者对《中国实验方剂学杂志》工作支持表示诚挚谢意!