

清热解毒片中绿原酸含量的 HPLC 测定

★ 卢卫平 胡耿 (江西药都樟树制药有限公司 南昌 331200)

关键词:清热解毒片;绿原酸;TLC 法;HPLC 法

中图分类号:R 284.1 文献标识码:

清热解毒片系《卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册(1995 年版)收载,由生石膏、金银花、栀子、龙胆等药味组成,具有清热解毒作用,用于治疗流感、上呼吸道感染及各种发热性疾病。本文采用 HPLC 法对该产品中主要成分绿原酸进行了含量测定,并进行了方法学研究。通过对上述质量标准提高的研究,大大提高了本品质量标准的可控性。

1 仪器与试剂

Waters Delta 600 高效液相色谱仪, Waters 2695 色谱仪, Waters 2996 二极管阵列紫外检测器, Empower(英文版)色谱工作站, 薄层预制板(青岛海洋化工有限公司); CQ-250 超声波清洗器(上海船舶电子设备研究所), 定量毛细管(美国 Drummond 公司), Simplicity™ 个人型超纯水系统(Millipore 公司), 层析缸: 200 × 200 mm、200 × 100 mm、100 × 100 mm (上海信谊玻璃仪器厂)。

绿原酸对照品(含量测定用, 批号: 110753-200612), 由中国药品生物制品检定所提供, 乙腈(色谱纯)、其他试剂为分析纯。

清热解毒片(上海中创医药科技有限公司生产, 批号为: 20070301, 20070302, 20070303), 阴性样品(按处方药味除去被测药材, 其余按生产工艺制成), 市售品(河南华茸堂药业有限公司生产, 批号: 060401-022)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1] 色谱柱: YMC ODS 分析柱(4.6 × 250 mm, 5 μm), 1 cm C₁₈ 预柱。流动相: 乙腈-0.4% 磷酸水(10: 90)。流速: 1.00 ml/min, 柱温: 30 °C。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 ml 含 40 μg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取重量差异项下的本品, 除去薄膜衣, 研细, 取粉末 6 g, 精密称定, 置 100 ml 具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 ml, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 放冷至室温, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 ml, 置于 25 ml 的棕色量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照试验 取金银花阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。在上述色谱条件下, 取供试品溶液、对照品溶液及阴性对照溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 结果表明, 其他成分对绿原酸的测定无干扰。

2.5 线性关系的考察 分别精密移取 0.202 4 mg/ml 的绿原酸对照品 0.5、1、2、3、4、5 ml 溶液于 10 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 分别精密吸取 20 μL 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以对照品浓度(X)对峰面积积分值(Y)绘制标准曲线, 并进行回归, 计算标准曲线的回归方程及相关系数。得回归方程为 $Y = 58\,227X - 53\,295$, $r = 0.999\,6$ 。以上结果

表明: 绿原酸在 10.12 ~ 101.20 μg/ml 浓度范围内与峰面积有良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一绿原酸对照品溶液 20 μL, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 结果绿原酸峰面积的 RSD 为 0.47%。表明精密度良好。

2.7 溶液的稳定性试验 取同一新配置的供试品溶液, 在 24 小时内每隔一段时间测定一次峰面积积分值, 结果 RSD 为 0.83%。表明绿原酸在 24 小时内稳定。

2.8 重复性试验 分别取本品同一批号样品 6 份, 照供试品溶液的制备方法制备并依法进样测定, 结果 RSD 为 1.22%, 表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的同一批号(20050301)清热解毒片粉末, 采用加样回收试验, 以 3 浓度水平加入一定量绿原酸对照品, 按供试品制备方法制备样品供试液, 测定样品中绿原酸的含量, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.6%, RSD = 2.07% ($n = 9$)。

2.10 供试品的含量测定 依法对自制的 5 批品及市售品(030401-022)进行了含量测定, 结果如表 1。

表 1 10 批样品含量测定结果

批号	含量/mg · g ⁻¹	批号	平均值/mg · g ⁻¹
20070301	0.86		
20070302	0.86	20070304	0.8
20070303	0.85	20070305	0.82
20070304	0.8	060401-022	0.84
20070305	0.82		

3 讨论

绿原酸为含有羟基和邻二酚羟基的强极性有机酸^[2], 经调节流动相比例, 使能排除其他成分的干扰, 使绿原酸保留时间和峰形都适宜, 最后选定乙腈-0.4% 磷酸水(10: 90)为流动相。经精密度和加样回收率试验, 表明本方法灵敏度、精密度良好, 为清热解毒片中绿原酸的测定提供了一种良好的方法。

试验中发现绿原酸见光不稳定, 所以本试验供试品的制备中, 样品经超声处理后, 取续滤液 5 ~ 25 ml 棕色容量瓶中, 如采用普通量瓶试验, 在 4 小时就开始衰减, 此外本试验除对流动相进行了筛选, 还分别对提取溶剂、提取方法、提取时间等因素进行了考察, 选择出了一个合理的提取方法。

参考文献

- [1]《中华人民共和国药典》一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 44.
- [2]李欣荣, 曹志胜, 柏茗. 中药制剂中绿原酸测定样品预处理方法研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 220 ~ 221.

(收稿日期: 2008-09-03)