

RP- HPLC 法测定风寒感冒宁冲剂中原儿茶酸、原儿茶醛的含量

胡晓炜 赵青威¹ (杭州 310014 杭州市药品检验所; ¹ 杭州 310016 浙江大学附属第一医院药剂科)

摘要 目的: 采用高效液相色谱法测定风寒感冒宁冲剂中原儿茶酸、原儿茶醛的含量。方法: Hypersil C₁₈柱(4.6* 200mm, 5 μ m)(大连化学物理研究所), 流动相: 甲醇: 水: 冰醋酸(32: 96: 0.25), 检测波长为 280nm。结果: 原儿茶酸含量测定线性

范围 0.0898~0.3143 μg , 相关系数 $r=0.9998$, 平均加样回收率 97.90%; RSD 1.96% ($n=5$)。原儿茶醛含量测定线性范围 0.0200~0.2000 μg , 相关系数 $r=0.9992$, 平均加样回收率 99.81%; RSD 2.12% ($n=5$)。结论: 方法简便, 结果准确, 可用于该制剂的质量控制。

关键词 反相高效液相色谱法; 风寒感冒宁冲剂; 原儿茶酸; 原儿茶醛

Determination of protocatechuic acid, protocatechualdehyde in Fen Han Gan Mao Ning granules by RP-HPLC

HU Xiao-wei, ZHAO Qing-wei¹ (Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310014, Zhejiang China; ¹No. 1 Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine the content of protocatechuic acid and protocatechualdehyde in Fen Han Gan Mao Ning granules by RP-HPLC. **METHODS:** A Hypersil C₁₈ column was used. The mobile phase was consisted of methanol: water: glacial acetic acid (32: 96: 0.25). The detection wavelength was 280 nm. **RESULTS:** The standard curve of protocatechuic acid was linear in the range of 0.0898~0.3143 μg . The correlation coefficient was 0.9998. The average recovery and RSD were 97.90% and 1.96% ($n=5$) respectively. The standard curve of protocatechualdehyde was linear in the range of 0.0200~0.2000 μg . The correlation coefficient was 0.9992. The average recovery rate and RSD were 99.81% and 2.12% ($n=5$) respectively. **CONCLUSION:** Results obtained showed that it's a reliable and accurate method for the quality control of Fen Han Gan Mao Ning granules.

KEY WORDS RP-HPLC, protocatechuic Acid, protocatechualdehyde, Fen Han Gan Mao Ning granules

风寒感冒宁冲剂是由四季青、大青叶、荆芥、防风、紫苏等药材制成的复方制剂, 临床用于风寒感冒引起的恶寒发热、头痛、鼻塞、流涕等症。四季青具有清热解毒的功效^[1], 为处方中的君药, 因此选择四季青的主要成分原儿茶酸、原儿茶醛为质量控制指标。本文采用高效液相法测定原儿茶酸、原儿茶醛的含量, 经方法学研究, 证明本法可行, 为该制剂的质量控制提供了快速准确的测定方法。

1 仪器、药品和试剂

LC-4A 高效液相色谱仪 (Shimadzu), SPD-10A 紫外-可见分光光度检测器, UPPER 色谱工作站, Mettler-Toledo AG204 电子天平。原儿茶酸、原儿茶醛对照品 (中国药品生物制品检定所); 风寒感冒宁冲剂 (正大青春宝药业有限公司, 批号 003001, 003002, 003003)。甲醇为色谱纯, 冰醋酸、醋酸乙酯、乙醚为分析纯, 水为重蒸水。进样量: 10 μL 。进样前均过 0.45 μm 微孔滤膜。

2 实验方法与结果

2.1 色谱分析条件

色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱 (ID 4.6*200mm, 5 μm) 流动相为甲醇: 水: 冰醋酸 (32: 96: 0.25); 流速 1.0mL/min; 检测波长 280nm; 柱温为室温 15 $^{\circ}\text{C}$ 。(样品、对照品、空白样品色谱图如图 1 所示)

2.2 标准曲线的制备

精密称取原儿茶醛对照品适量, 加甲醇稀释到每 1mL 含 80.0 μg 。分别精密吸取 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50mL 于 10mL 量瓶中加甲醇稀释到刻度, 摇匀, 分别进样, 以峰面积积分值 A 对进样浓度 C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 进行线性回归, 得回归方程 $A = -8041.5 + 118403.4C$, $r=0.9992$; 表明原儿茶醛进

样量在 0.0200~0.2000 μg 有良好的线性关系。

精密称取原儿茶酸对照品适量, 加甲醇稀释到每 1mL 含 179.6 μg 。分别精密吸取 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75mL 于 10mL 量瓶中加甲醇稀释到刻度, 摇匀, 分别进样, 以峰面积积分值 A 对进样浓度 C ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 进行线性回归, 得回归方程 $A = 7214.8 + 39515.7C$, $r=0.9998$; 表明原儿茶酸进样量在 0.0898~0.3143 μg 有良好的线性关系。

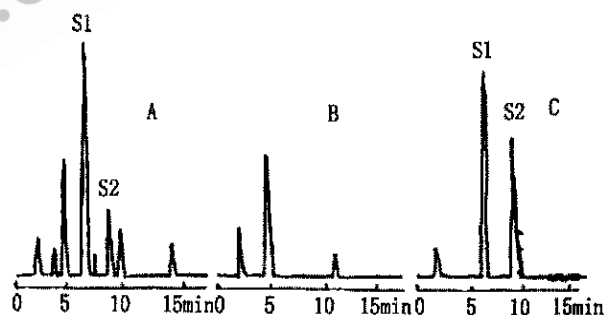


图 1

A 样品 B 空白样品 C 对照品

s1 原儿茶酸 s2 原儿茶醛

2.3 提取条件的选择

2.3.1 提取溶剂的选择

取同一批号样品 5 袋内容物, 混匀, 取 2 份, 各约 18g, 精密称定, 用 0.1mol/L 盐酸 100mL 搅拌溶解, 分别用乙醚和醋酸乙酯各 50mL 提取二次, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并定量转移至 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。精密吸取 1.0mL, 置 25mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度作供试品溶

液。各进样两次,结果醋酸乙酯提取液原儿茶醛含量为0.50 mg/包,原儿茶酸含量为5.33mg/包;乙醚提取液原儿茶醛含量为0.45mg/包,原儿茶酸含量为5.21mg/包。比较色谱图,醋酸乙酯提取液分离度好于乙醚提取液,因此采用醋酸乙酯为提取溶剂。

2.3.2 提取次数的选择

取同一批号样品5袋内容物,混匀,取4份,各约18g,精密称定,用0.1mol/L 盐酸100ml,搅拌溶解,分别用醋酸乙酯提取二次、三次、四次、五次(50, 20, 20, 20, 20ml),合并提取液,蒸干,残渣加甲醇溶解并定量转移至10ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度。精密吸取1.0ml,置25ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度作供试品溶液。各进样两次,结果原儿茶醛含量分别为0.509、0.562、0.558、0.564mg/包;原儿茶酸含量分别为5.23、5.92、5.93、5.88mg/包。因此采用醋酸乙酯提取三次较为合适。

2.4 供试溶液的制备

2.4.1 对照品溶液的制备

精密称取原儿茶醛对照品适量,加甲醇制成每1ml,含20.00μg的对照品溶液。精密称取原儿茶酸对照品适量,加甲醇制成每1ml含22.44μg的对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备

取本品装量差异项下的颗粒,混匀,取本品约18g,精密称定,加入0.1mol/L 盐酸100ml,搅拌溶解,用醋酸乙酯萃取3次(50, 20, 20ml),合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇溶解并定量转移至10ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度。精密吸取1.0ml,置25ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度作供试品溶液。

2.4.3 空白样品的制备

取大青叶、荆芥、防风、紫苏,按标准制法项下操作,制得缺四季青的空白样品。再按供试品溶液制备项下操作,制得缺四季青的空白样品溶液。

2.5 精密度试验

取原儿茶醛对照品溶液进样5次,测峰面积,结果RSD为1.43%。取原儿茶酸对照品溶液进样5次,测峰面积,结果RSD为0.67%。

2.6 稳定性试验

取同一样品溶液,每隔1h进样一次,测峰面积,共5次,结果原儿茶醛RSD为2.63%,原儿茶酸RSD为0.54%。

2.7 重复性试验

取同一批号样品5份,依法平行测定5次,结果原儿茶醛平均含量为0.56mg/包,RSD为0.94%,原儿茶酸平均含量为5.89mg/包,RSD为0.67%。

2.8 回收率试验

取已知含量的样品9份,精密称定,精密加入原儿茶醛、原儿茶酸对照品适量,依法测定,计算回收率,结果见表1,表2。

2.9 样品测定

取样品3批,依法测定含量,结果见表3。

表1 样品中原儿茶醛加样回收率试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.552	0.456	1.003	98.90	99.81	2.12
0.544	0.456	1.009	101.97		
0.558	0.456	1.017	100.66		
0.551	0.570	1.094	95.26		
0.559	0.570	1.120	98.42		
0.546	0.570	1.122	101.05		
0.557	0.684	1.251	101.46		
0.537	0.684	1.230	101.32		
0.569	0.684	1.248	99.27		

表2 样品中原儿茶酸加样回收率试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
5.81	4.27	10.01	98.36	97.90	1.96
5.72	4.13	9.70	96.37		
5.97	4.01	10.05	101.75		
5.79	5.85	11.43	96.41		
5.89	5.96	11.57	95.30		
5.74	6.01	11.72	99.50		
5.87	8.42	14.13	98.10		
5.65	8.15	13.64	98.04		
5.98	7.97	13.73	97.24		

表3 风寒感冒宁冲剂含量测定结果

样品批号	原儿茶醛		原儿茶酸	
	含量mg/包	RSD	含量mg/包	RSD
003001	5.77	0.50%	0.56	1.40%
003002	5.71	0.47%	0.56	1.85%
003003	5.89	0.67%	0.56	0.94%

注: n= 5

3 讨论

3.1 据文献报道,原儿茶醛含量测定方法有示波极谱法^[2]、薄层扫描法^[3]、高效液相法^[4],原儿茶酸含量测定方法有一阶导数分光光度法^[5]、高效液相法^[6],其中以HPLC法较为简便准确。部颁标准中无含量测定控制指标^[7],而四季青为该处方中主要成分,其所含原儿茶醛、原儿茶酸有抗菌作用,因此以原儿茶醛、原儿茶酸为指标控制和评估质量有实际意义。

3.2 实验中分别尝试采用醋酸乙酯和乙醚作为提取溶剂,经RP-HPLC分离,从原儿茶醛、原儿茶酸的提取效率和色谱图出峰情况看,用醋酸乙酯提取均优于用乙醚。因此采用醋酸乙酯为提取溶剂。又分别用醋酸乙酯提取不同次数,结果提取三次后原儿茶醛、原儿茶酸的含量变化不大,因此实验选择提取三次。

3.3 经RP-HPLC分离,原儿茶醛保留时间为6.50分,塔板数大于1500;原儿茶酸保留时间为9.21分,塔板数大于2000。

参考文献

1 浙江药用植物志. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1980. 741.
2 邹洪. 原儿茶醛的电化学研究. 分析测试学报, 1998, 17(1): 47.
3 张玲, 徐新刚, 时延增. 9种含丹参中成药中原儿茶醛的含量

测定. 药物分析杂志, 1997. 117(4): 253.

4 王静行, 任天池. HPLC 法测定心舒口服液中原儿茶醛的含量, 中国实验方剂学杂志, 1997. 3(4): 12.

5 冯天炯, 孙 碧. 一阶导数光谱法测定急支糖浆中原儿茶酸. 中成药, 1992. 14(12): 11.

6 林春华, 朱品业, 胡家炽. 高效液相法测定壮腰健肾丸原儿茶酸的含量. 中国中药杂志, 1996. 21(5): 288.

7 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂. 第八册. 43.

收稿日期: 2000- 12- 05