

RP-HPLC测定复方感冒灵片中四种成分的研究

倪坤仪 韩南银¹ 程光斤 胡育筑

(中国药科大学分析化学研究室,南京 210009)

摘要 用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定了复方感冒灵片中的三种合成药扑热息痛、咖啡因和扑尔敏,同时定量测定了该片剂中药成分金银花中的绿原酸。用YWG C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 10 μ m),甲醇-冰醋酸(16:83:1)为流动相,水杨酸胺为内标,用紫外检测器。对提取方法、干扰因素进行了考察。测定了三个批号的复方感冒灵片样品,测定结果显示,其中中药金银花中有效成分绿原酸含量明显偏低。

关键词 复方感冒灵片; 金银花; 绿原酸; 扑热息痛; 咖啡因; 扑尔敏; RP-HPLC

复方感冒灵片由金银花、岗梅、野菊花等六味中药和扑热息痛、咖啡因、扑尔敏三味合成药组成,对感冒发热、头痛、咽喉痛、咳嗽等有较好疗效。广东省药品标准^[1]用重氮化法测定其中一味西药扑热息痛,邓洗博^[2]用薄层紫外分光光度法测定了扑热息痛和扑尔敏。本文用反相高效液相色谱法成功地分离和测定了金银花中的绿原酸,以及扑热息痛、咖啡因、扑尔敏三味西药。对提取溶剂、提取方法、干扰因素进行了考察,并进行了四种被测组分的线性、线性范围、模拟样回收率和加样回收率试验。说明了该法的准确性、可靠性和可行性。

1 实验部分

1.1 仪器与药品

Waters高效液相色谱仪,510高压泵,490紫外可见波长检测器,740数据处理机。

绿原酸(中国药品生物制品检定所提供的),水杨酰胺,扑热息痛,咖啡因,扑尔敏(本校提供);复方感冒灵片,金银花,岗梅,五指柑,野菊花,三桠苦,板蓝根(市售);甲醇等试剂为分析纯,水为二次重蒸馏水。

1.2 色谱条件

色谱柱: YWG C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 10 μ m), LiChrosorb RP18柱(4.6 mm×150 mm, 5 μ m), 甲醇-冰醋酸(16:83:1)为流动相,流速1.0 ml/min,绿原酸,扑热息痛,扑尔敏,咖啡因的

检测波长分别为326, 249, 265, 272 nm,均为待测组分在该流动相中的最大吸收波长,灵敏度0.64 AUFS。上述四组分的保留时间为10.04, 3.17, 1.15, 12.16 min,见图1。水杨酰胺为内标,保留时间为8.16 min。

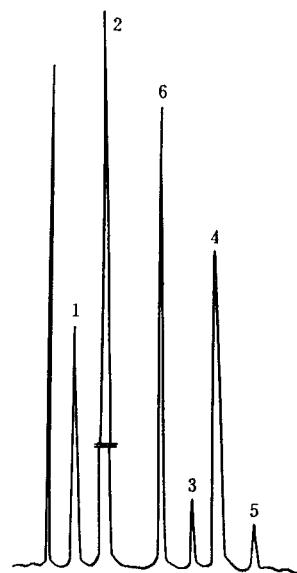


Fig 1. Chromatogram of sample

1. puermin; 2. paracetamol; 3. chlorogenic acid; 4. caffeine;
5. unknown; 6. internal standard(salicylamide)

1.3 流动相的优化

通过实验发现,甲醇-水-四氢呋喃-水,以任何比例均不能将上述四种组分分离完全,考虑到绿原酸的酸性,在甲醇-水中加入少量冰醋酸,而获得了

较好的分离效果,在此基础上,运用溶剂选择形三角形法,以甲醇、水、3%醋酸为三角形的三个顶点,进一步优化流动相,最后确定流动相组成为甲醇-水-冰醋酸(83:16:1)。此时,色谱优化函数和色谱响应函数均达到零。

1.4 提取溶剂和提取方法的选择

精密称取五份复方感冒灵片粉末各500 mg,分别加入甲醇、乙醇、乙酸乙酯、丙酮和氯仿50 ml,经回流提取,离心,过滤等操作,进样后结果表明,乙醇、乙酸乙酯、丙酮均能提取完全。乙醇毒性小,使用方便,故选用乙醇为提取溶剂。

同时也进行了超声波提取、沙氏提取器提取和热回流三种方法比较,结果表明,沙氏提取器提取效果最佳。

1.5 干扰因素考察

按复方感冒灵片配方配制不含金银花、扑热息痛、扑尔敏、咖啡因的空白模拟样品,按样品项下方法提取,经进样分析,结果表明,未出现干扰峰,见图2

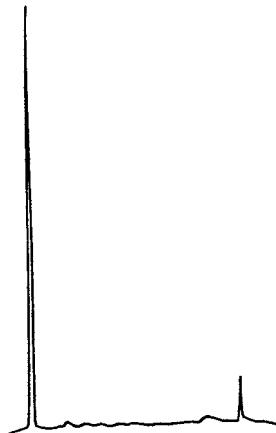


Fig 2 Chromatogram of blank simulated sample

1.6 线性关系和灵敏度

贮备液的配制: 精密称取绿原酸、扑热息痛、扑尔敏、咖啡因适量,用乙醇为溶剂,浓度分别为0.1, 5, 0.5, 0.5 mg/ml,贮存备用。

内标液的配制: 以水杨酰胺为内标,乙醇为溶剂,配制浓度为0.5 mg/ml的溶液备用。

标准液配制: 精密吸取贮备液为0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 ml,各加内标1 ml置10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,混匀后,进样10 μ l, HPLC测定,同一浓度测定三次,取其平均值,以标

准品峰面积与内标物峰面积之比为纵坐标,进样量为横坐标回归,回归方程如下:

	回归方程	<i>r</i>	线性范围		检测限 (ng)
			(μ g)	(ng)	
扑热息痛	A= - 0.00188+ 1.53C	0.9997	1.0~10	0.2	
扑尔敏	A= 0.000442 ω 0.672C	0.9999	0.10~1.0	1.2	
咖啡因	A= - 0.00107 ω 1.29C	0.9999	0.10~1.0	0.4	
绿原酸	A= - 0.000902 ω 0.654C	0.9997	0.02~0.20	1.4	

1.7 回收率测定

1.7.1 模拟样品回收率: 将购得药材粉碎后,按处方制作复方感冒灵片的模拟样品,按样品项下相同方法提取,测定,结果见表1

1.7.2 加样回收率: 精密称取扑热息痛10 mg,扑尔敏,咖啡因各1 mg,绿原酸0.5 mg,加入至约1 g的复方感冒灵片粉末中,按样品分析项下方法提取,测定结果见表1

Tab 1. Recoveries of samples ($n=5$)

Compl.	Recoveries (1)		Recoveries (2)	
	Average (%)	RSD (%)	Average (%)	RSD (%)
Chlorogenic acid	99.0	0.30	98.3	1.1
Paracetamol	98.8	0.36	100.2	0.82
Puermin	98.9	0.29	98.2	1.1
Caffeine	98.7	0.37	100.3	1.5

Recoveries (1): recoveries of simulated samples Recoveries (2): recoveries of adding determined components in samples

1.8 样品分析

取复方感冒灵片20片,剥去糖衣,研磨,称重,计算平均片重。精密称取样品粉末约1 g,置60 ml索氏提取器,加入无水乙醇50 ml,于90°C水浴回流8 h,残渣再用无水乙醇50 ml提取二次,直至提取完全,合并提取液,浓缩,过滤,加内标液1 ml,用流动相定容至10 ml量瓶中,进样,测定结果见表2

Tab 2. Analysis of samples ($n=5$)

Batch No.	Chlorogenic acid		Paracetamol		Puermin		Caffeine	
	Average (mg/g)	RSD (%)	Average (mg/g)	RSD (%)	Average (mg/g)	RSD (%)	Average (mg/g)	RSD (%)
1	0.00920	1.0	6.58	1.2	0.0885	1.6	0.443	1.5
2	0.00866	1.0	6.57	1.0	0.0765	2.2	0.450	1.9
3	0.00807	1.8	6.59	1.1	0.0759	2.9	0.383	1.7

2 讨 论

2.1 不同色谱柱分离效果的比较

在相同色谱条件下,比较了四根色谱柱的性能,四根柱的填料均为十八烷基硅烷键合硅胶,YWG-C₁₈,YQG-C₁₈为国产填料,其他两根是进口柱。YQG是球形填料,柱填充均匀,渗透性能好,填料颗粒直径又为5μm,柱效最高。

2.2 复方感冒灵片中绿原酸含量

从金银花中绿原酸的含量,根据该片剂的处方,可近似推算出绿原酸在该片剂中的含量。作者取市售金银花晒干,粉碎后,精密称取一定量,用无水乙醇回流提取,经过滤后,用本文的HPLC的色谱条件,进行测定,测定结果含绿原酸为2.70% (n=5)。由于金银花种类繁多,不同地点、季节采集的样品,其绿原酸含量相差很大,文献报道可从2%

~11%不等。按复方感冒灵片处方,金银花中绿原酸含量按2.7%计算,复方感冒灵片含绿原酸接近1mg/g,与本文测定结果相差较多。从本文三味西药的测定结果看,与处方含量较为相符或相差不远。复方感冒灵片为中西药制剂,是目前治疗感冒的常用药,为保障广大人民用药安全,对其中中药有效成分,如何全面质量控制,是今后中成药和中西药制剂面临的急需解决的问题之一。

参 考 文 献

- 1 广东省药品标准:上册. 1987
- 2 邓浩博. 复方感冒宁片中扑热息痛及扑尔敏的薄层紫外分光度测定. 中成药研究, 1985, 11: 10
- 3 杨小持,卓菊,黄光中. 比色法测定复方感冒灵片中扑热息痛的含量. 中药材, 1992, 15(8): 34
- 4 张幼扬,萧树雄,马丽莎. 一阶导数光谱法测定复方感冒灵片中扑热息痛的含量. 中成药研究, 1988, 4: 12

Studies on Separation and Determination of Four Components in Fu Fang Gan Mao Ling Tablets by RP-HPLC

Ni Kunyi, Han Nanyin, Cheng Guangxin, Hu Yuzhu

Department of Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract A RP-HPLC method was developed to separate and determine chlorogenic acid, paracetamol, puermin, caffeine in Fu Fang Gan Mao Ling Tablets. Four components were separated and determined on YWG C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 10μm), or lichrosorb RP 18 column (4.6 mm×150 mm, 5μm), using MeOH-H₂O-HAc (16: 83: 1) as mobile phase and salicylamide as internal standard, UV detector, and flow rate 1 ml/min. Selection of extracting solvent, mobile phase optimization, determination of linearity range, and check of convenient factor have been made. The accuracy of the method was checked by recoveries.

Key words Fu Fang Gan mao Ling Tablets; Floslonicerae; Chlorogenic acid; Paracetamol; Puermin; Caffeine; RP-HPLC