

反相高效液相色谱法测定抗菌 2 号注射液中咖啡酸的含量

张旭东¹, 张淑惠¹, 张西茹², 陈太平¹, 姜建国²(¹. 河北省人民医院, 河北 石家庄 050051; ². 河北省药品检验所, 河北 石家庄 050011)

摘要:目的 测定抗菌 2 号注射液中咖啡酸的含量。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。流动相: 甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钠-三乙胺(114: 385: 1)用磷酸调 pH 值至 3.5, 检测波长 323 nm, 柱温 40 ℃。结果 咖啡酸在 6~54 μg 之间呈良好的线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 101.52%, RSD 为 1.1% ($n=6$)。结论 本方法简便、准确、专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 反相高效液相色谱法; 抗菌 2 号注射液; 咖啡酸

中图分类号: R917.01; R927.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2003)06-0511-02

Determination of caffeic acid in anti-bacteria II injection by RP-HPLC

ZHANG Xu-dong¹, ZHANG Shu-hui¹, ZHANG Xi-ru², CHEN Tai-pin¹, JIANG Jian-gou²(¹. Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China; ². Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: **OBJECTIVE** To determine the content of caffeic acid in anti-bacteria II injection by RP-HPLC. **METHOD** A ZORBAX SB-C₁₈ column was used. The mobile phase was methanol-0.01 mol/L sodium dihydrogen phosphate-triethylamine(114: 385: 1), adjusted the solution with phosphoric acid pH to 3.5. Detection wavelength was at 323 nm, column temperature was at 40 ℃. **RESULTS** The linearity was good within the range of 6~540 μg, $r=0.9998$. The average recovery and RSD were 101.52% and 1.1% ($n=6$), respectively. **CONCLUSION** This method is simple, accurate and specific. It can be used for the quality control of anti-bacteria II injection.

KEY WORDS: RP-HPLC; anti-bacteria II injection; caffeic acid

抗菌 2 号注射液是菊科植物蒲公英经加工提取制成的灭菌水溶液, 具有清热解毒, 消痛散结之功效, 临床用于疔肿、痈疮、疔毒、盆腔炎、低热及其它葡萄球菌感染等。蒲公英的化学成分主要为蒲公英甾醇乙酸酯、咖啡酸、绿原酸、胡萝卜苷等[凌云, 鲍燕燕, 张永林等. 兴安蒲公英的化学成分研究. 中草药, 2000, 31(1): 10.], 本实验采用高效液相色谱法, 不经萃取直接测定咖啡酸的含量, 经方法学研究, 证明本方法可行, 为该制剂的质量控制提供了快捷、准确的测定方法。

1 仪器、药品和试剂

LC-10A 高效液相色谱仪 (shimadzu), SPD-10A 紫外-可见分光光度计, Echrom98 色谱工作站; UV-1221 紫外分光光度计 (北京通用公司); 咖啡酸对照品 (中国药品生物制品检定所); 抗菌 2 号注射液 (河北省人民医院)。甲醇为优级纯, 其它试剂均为分析纯, 水为超纯水。进样量 20 μL, 进样前溶液均过 0.45 μm 微孔滤膜。

2 实验方法与结果

2.1 测定波长的选择

用甲醇将咖啡酸对照品溶解并稀释成 0.15 mg/mL 的溶液, 于 200~360 nm 波长内进行扫描, 咖啡酸在 323 nm 有最大吸收。故检测波长选择为 323 nm。

2.2 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ 柱 (ID 4.6 mm × 150 mm, 5 μm),

流动相为甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钠-三乙胺(114: 385: 1)用磷酸调 pH 至 3.5; 检测波长 323 nm; 柱温 40 ℃。(样品、对照品、空白样品的色谱图见图 1)。

2.3 标准曲线的制备

精密称取咖啡酸对照品 15.10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 振摇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得咖啡酸对照品贮备液。

精密量取咖啡酸对照品贮备液 2, 4, 6, 10, 14, 18 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 在上述色谱条件下各分别量取 20 μL, 注入液相色谱仪, 以峰面积为纵坐标, 浓度 (μg/mL) 为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程: $A = 11341.9 \times C - 100769.9$ $r = 0.9998$ ($n = 6$)

2.4 供试品溶液的制备

精密量取本品 5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.5 对照品溶液的制备

精密称取咖啡酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 中含 18 μg 的溶液, 摇匀, 即得。

2.6 精密度试验

取 2.5 项对照品溶液重复进样 6 次, 以峰面积计算, RSD 为 0.25%。

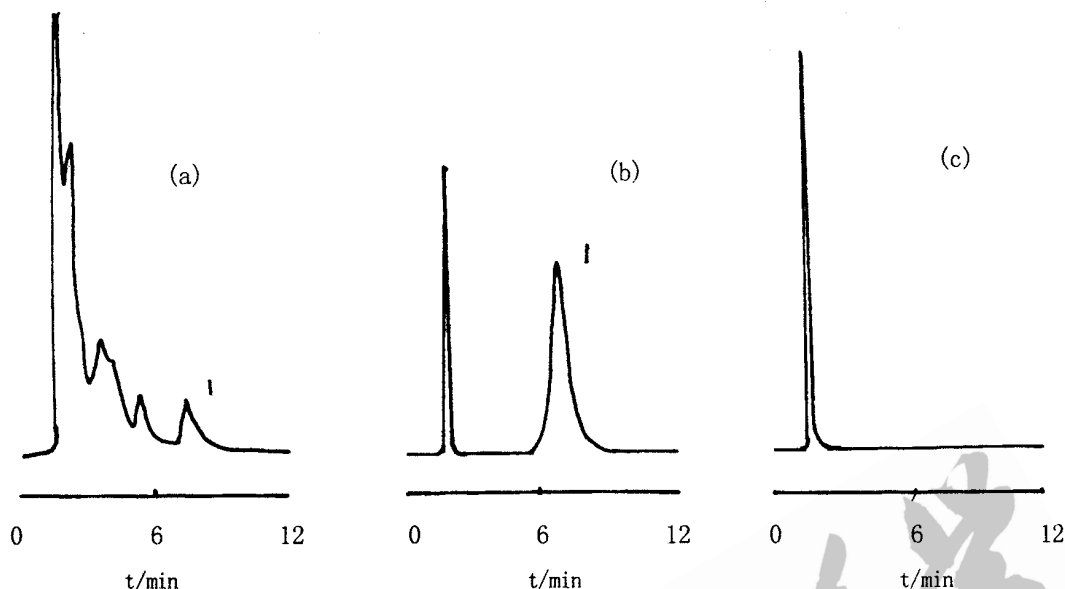


图1 样品(a)、对照品(b)与空白样品(c)的色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of sample(a), reference substances(b) and blank sample(c)

1. 咖啡酸

1. caffeic acid

2.7 重复性试验

精密量取同批号 001107 样品 5 份,依法测定咖啡酸的含量, RSD 为 0.91 %。

2.8 稳定性试验

取同一样品溶液,每隔 1h 进样 1 次,共 5 次,以峰面积计算, RSD 为 1.5 %,说明溶液在 5h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品 6 份,精密加入咖啡酸对照品溶液适量,依法测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率测得结果

Tab 1 The results of recovery rate

加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.157	0.160	101.91		
0.157	0.161	102.55		
0.314	0.313	99.68	101.52	1.1
0.314	0.317	100.96		
0.470	0.478	101.70		
0.470	0.481	102.34		

2.10 样品测定

取本品 5 批,依法测定含量,结果见表 2。

表 2 抗菌 II 号注射液中咖啡酸的含量测定结果

Tab 2 Results of sample determination

样品批号	咖啡酸含量(μg/mL)	RSD(%)	n
001107	38.41	0.91	5
010411	17.99	1.5	3
010921	36.99	1.1	3
010823	40.31	1.6	3
011120	160.32	1.8	3

3 讨论

3.1 中国药典 2000 年版(一部)中蒲公英药材以咖啡酸的含量作为药材的含量指标,本品为蒲公英经提取加工后的灭菌水溶液,故以咖啡酸作为控制本品质量的指标成份。

3.2 流动相的 pH 值对试验有较大的影响,加入三乙胺能明显改善拖尾,对不同的 pH 值及三乙胺的加入量进行了考察,发现每 500 mL 流动相中加入 1.0 mL 三乙胺并将其 pH 值调至 3.5,色谱行为最佳,取得了较好的分离效果。该法灵敏、可靠,可作为样品的含量测定方法。

3.3 通过 5 批样品的测定,发现咖啡酸含量差异较大,其主要原因为:咖啡酸在水中几乎不溶,在沸水中略溶,提取时应将药材洗净,晒干,粉碎后再经水煮、醇提。药材是否粉碎和水煮时间是造成咖啡酸含量差异显著的主要原因之一。因此,若能同时质控咖啡酸的含量,即可消除咖啡酸含量不同对制剂疗效所造成的影响,从而使该品种的质量标准达到了一个较为完善的水平。

收稿日期:2002-04-08