

高效液相色谱法测定榭木胃痛颗粒中咖啡酸的含量

马临科¹, 卢敏² (1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004; 2. 浙江永宁制药厂, 浙江 328000)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定中药榭木胃痛颗粒中咖啡酸的含量。方法 用 Discovery ODS(250mm×4.6mm, 5 μ m)色谱柱, 甲醇-1%冰醋酸溶液(17:83)为流动相, 流速 1.0mL/min, 检测波长:323nm。结果 咖啡酸在 13~132ng 范围内线性关系良好, 平均回收率为 98.12%, RSD=1.2%(n=6)。结论 建立了榭木胃痛颗粒含量测定方法, 方法准确, 重现性好。

关键词:榭木胃痛颗粒; 咖啡酸; 高效液相色谱法

Determination of caffeic acid in congmuweitong Keli by HPLC

Ma Lin-ke, LU Min(Zhejiang provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE An HPLC method was developed for determination of caffeic acid in Congmuweitong Keli. **METHOD** The column was ODS Discovery C18 (4.6mm×250mm, 5 μ m), mobile phase was Methanol - 1% acetic acid (17:83). Detection wavelength was set at 323nm. **RESULTS** Linearity range was 13~132ng, The average recovery was 98.12%, RSD=1.2%(n=6). **CONCLUSION** The method is accurate and can be used for quality control of the preparation.

KEY WORDS: Congmuweitong Keli; caffeic acid; HPLC

中药榭木胃痛颗粒是由榭木、蒲公英等经水煎煮加工而成的复方制剂。临床上具有理气和胃, 清热止痛之功效, 主要用于治疗气滞型胃炎、胃溃疡。原标准中无含量测定项, 蒲公英为主要药味, 所含咖啡酸具有广谱抗菌作用, 故采用高效液相法对咖啡酸进行含量测定方法学研究; 结果表明该方法操作简便, 结果准确, 可作为本制剂质量控制的有效方法。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪(包括 G1311 四元泵, G1322 自动进样器, G1322 脱气机, G1314A 紫外可见检测器, G1316 柱温箱, 配备 HP 工作站); 岛津 UV-260 紫外可见分光光度计。

甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 冰醋酸为分析纯。咖啡酸对照品由中国药品生物制品检定所提供; 榭木胃痛颗粒由某药业有限公司提供(批号 020101、020102、020103)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Discovery C18 柱(250mm×4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-1%冰醋酸溶液(17:83); 流速: 1.0mL/min; 检测

波长: 323nm; 进样量: 10 μ L; 理论板数按咖啡酸计算不得低于 3000。

2.2 对照品和供试品溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24h 的咖啡酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1mL 含 6.63 μ g 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取榭木胃痛颗粒, 研细, 取约 1.5g, 精密称定, 置 50mL 锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25mL, 称定重量, 超声处理 30min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 滤液置棕色量瓶中, 即得。

2.3 测定方法

精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 分别注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 计算含量。

2.4 缺味对照试验

取缺蒲公英阴性样品, 同供试品溶液制备法制成阴性对照溶液, 注入液相色谱仪。色谱图中在与咖啡酸对应的位置无干扰。见图 1。

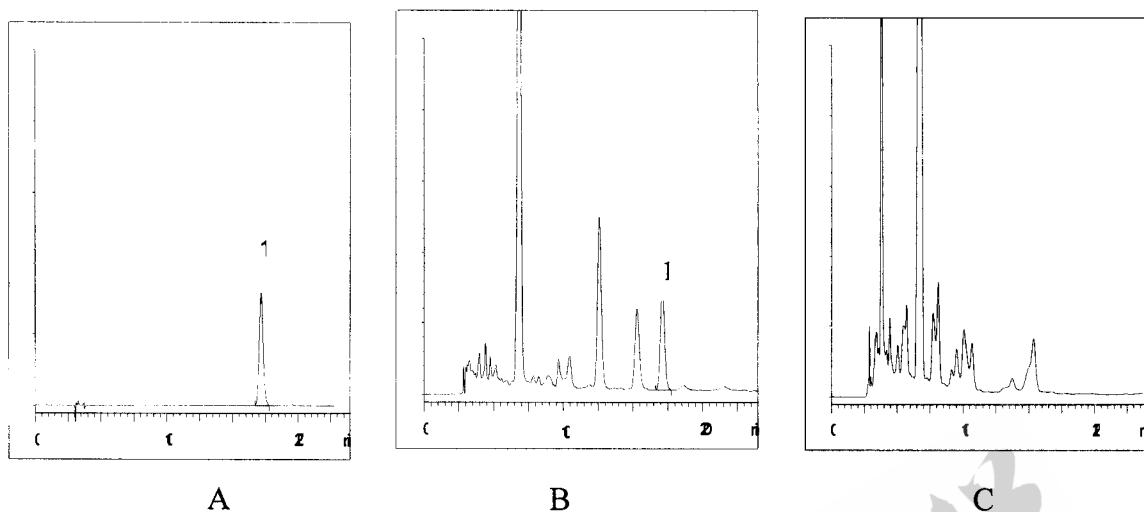


图 1 对照品(A),样品(B)和阴性对照(C)

Fig 1 Chromatograms of reference substance (A) , sample(B) , negative control(C)

2.5 线性试验

分别精密吸取咖啡酸对照品溶液(6.63 μ g/mL)2,5,8,10,12,15,20 μ L,注入液相色谱仪,以色谱峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,得回归方程为: $Y=5.1308X+1.0800$
 $r=1.0000$ 显示咖啡酸对照品在 13~132ng 范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验

按以上色谱条件,精密吸取同一份供试品溶液连续进样6次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.3%($n=6$)。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液,按以上色谱条件,每隔一定时间进样1针,测定峰面积,结果 RSD 为 0.4%,显示供试品溶液在暗处室温下放置 24h 内稳定。

2.8 重复性试验

取同一批号样品6份,按“2.2.2”项下制备供试品溶液,分别测定每份的含量,测得平均含量为 98.39 μ g/g, RSD=0.4%($n=6$)。

2.9 回收率试验

采用加样回收法,取已知含量的样品约 0.70g,精密加入咖啡酸对照品溶液适量,按“2.2.2”项下制备供试品溶液,测定供试品溶液中咖啡酸含量,计算回收率,结果见表1。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery experiments

原有量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
69.23	66.30	135.28	99.62	98.12	1.2
69.24	66.30	134.57	98.54		
69.06	66.30	134.36	98.49		
69.35	66.30	134.00	97.51		
69.05	66.30	134.30	98.42		
69.18	66.30	132.93	96.15		

2.10 样品测定结果 依法测定榉木胃痛颗粒中咖啡酸的含量,结果见表2。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Results of sample

批号	含量(μ g/g)	平均含量(μ g/g)
020101	98.47	98.48
020102	94.65	94.49
020103	93.55	93.80

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

根据咖啡酸的性质,分别考察了 70%乙醇、50%甲醇和含 5%甲酸的甲醇三种溶剂对含量测定结果的影响,结果表明,后两者提取效率较高且相仿,但用含 5%甲酸的甲醇提取液进样,峰形较宽且不对称,可能是由于咖啡酸在样品溶剂的溶解度明显大于流动相中的溶解度而引起峰形改变。实验中选择了 50%甲醇为提取溶剂。

3.2 提取方法的选择

比较了回流提取和超声提取。结果表明,2种提取方法含量测定结果相近,另对超声时间进行了比较,认为超声提取 30min 为宜。

3.3 采用高效液相色谱法测定榉木胃痛颗粒中咖啡酸的含量,操作简便,检测限低,结果准确,为有效控制本品质量提供依据。

收稿日期:2003-07-14