

高效液相色谱法测定消炎抗菌片中没食子酸的含量

潘细贵¹, 阮晓琪², 汪洋², 张先洲¹, 周本宏¹ (1. 武汉大学人民医院药学部, 武汉 430060; 2. 武汉大学药学院, 武汉 430072)

摘要:目的 建立消炎抗菌片中没食子酸的高效液相色谱含量测定方法。方法 采用 Agilent ZORBAXSB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.025 mol·L⁻¹ 磷酸水溶液 (10:90); 流速: 0.6 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 检测波长: 215 nm。结果 没食子酸在 1.168 ~ 23.36 μg·mL⁻¹ 范围内呈良好线性关系 ($r=0.9995$), 平均加样回收率为 99.44%, RSD 为 1.10%。

结论 本方法简便、快速、准确、重复性好, 用于测定消炎抗菌片中没食子酸的含量是可行的。

关键词: 高效液相色谱法; 消炎抗菌片; 没食子酸

中图分类号: R917.799.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2007)03-0225-03

Determination of Gallic Acid in the Xiaoyankangjun Tablets by HPLC

PAN Xi-gui¹, RUAN Xiao-qi², WANG Yang², ZHANG Xian-zhou¹, ZHOU Ben-hong¹ (1. Department of Pharmacy,

作者简介: 潘细贵, 女, 硕士, 副教授, 电话: 027-61387844

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determining the gallic acid content in the Xiaoyankangjun tablets. **METHODS** Agilent ZORBAXSB-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase consisted of methanol-0.025 mol·L⁻¹ phosphoric aqueous solution (10:90); the flow rate was 0.6 mL·min⁻¹ and column temperature was set at room temperature; the detecting wavelength was set at 215 nm. **RESULTS** The method was linear with the range of 1.168 ~ 23.36 μg·mL⁻¹ for gallic acid (*r* = 0.999 5); the average recovery was 99.44%; the RSD was 1.10%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate. It can be used for quantitative determination of gallic acid in the Xiaoyankangjun tablets.

KEY WORDS: HPLC; Xiaoyankangjun tablets; Gallic acid

消炎抗菌片是武汉大学人民医院药学部根据中医临床验方开发研制而成的中药复方制剂,由石榴皮、地榆和黄芩三味药材组成^[1],该制剂具有清热解毒、涩肠止痢的作用。临床上主要用于治疗菌痢,效果显著。没食子酸为地榆和石榴皮中的有效成分。它能与蛋白质结合,对肠道细菌有直接的杀灭作用^[2]。目前对本制剂中黄芩苷的含量测定已有报道^[3],但对没食子酸的含量测定未见报到。笔者采用高效液相色谱法(HPLC)测定消炎抗菌片中没食子酸的含量。该方法快速、灵敏、准确,适用于该制剂的快速含量分析。

1 材料与仪器

1.1 仪器 美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪, YXJ-1 超声洗涂器。

1.2 试剂 没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所);消炎抗菌片(武汉大学人民医院药学部);甲醇(天津福辰化学试剂厂,色谱纯);磷酸(天津博迪化工有限公司,分析纯);重蒸水。

2 溶液的制备

2.1 标准品溶液的制备

精密称取没食子酸对照品 11.68 mg,用甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中,分别取该溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 mL,用甲醇定容于 10 mL 的量瓶中,摇匀,得没食子酸对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取样品刮去包衣层,研细,混匀,精密称取适量(相当于没食子酸约 1 mg)置于 100 mL 的锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 100 mL,精密称定,超声处理 30 min,放冷,精密称定,补足重量,摇匀,过滤,取续滤液再经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后,即得。

2.3 阴性对照液的制备

按处方除去地榆和石榴皮后照制备工艺制备阴性消炎抗菌片,然后按供试品溶液的制备方法处理,即得。

3 方法与结果

3.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent ZORBAXSB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);检测波长为 215 nm;流动相为甲醇-0.025 mol·L⁻¹磷酸水溶液(10:90);流速为 0.6 mL·min⁻¹;柱温为室温。

3.2 线性关系的考察

取“2.1”项下各浓度的对照品溶液,各进样 10 μL,测定

峰面积,以没食子酸的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归处理,得没食子酸的回归方程为: $Y = -86.7142 + 148.0133X$ (*r* = 0.999 5)。结果表明没食子酸在 1.168 ~ 23.36 μg·mL⁻¹浓度范围内呈很好的线性关系。

3.3 精密度实验

精密吸取上述对照品溶液(6.738 μg·mL⁻¹),连续重复进样 5 次,每次 10 μL, RSD 为 0.81%。

3.4 稳定性实验

取浓度为 11.68 μg·mL⁻¹的没食子酸对照液,在 0、1、2、4、8 h(放置时避光),分别测定其峰面积,结果 RSD = 1.01%。结果表明,没食子酸的甲醇液避光保存,在 8 h 内较稳定。

3.5 重复性试验

取同一批号样品(050401),按供试品溶液制备方法制备 6 份,依法测定, RSD 为 0.93%。表明本方法测定重复性良好。

3.6 回收率实验

精密称取已知含量的样品粉末(相当于没食子酸约 0.5 mg),准确加入 0.234、0.467、0.701 mg 没食子酸对照品,各平行三份,按“2.2”方法制备样品共 9 份,分别精密进样 10 μL,测定峰面积,计算加样回收率,结果平均回收率为 99.44%, RSD 为 1.10%。

3.7 分离的可行性考察

取供试品溶液、对照品溶液及阴性供试品液各 10 μL 分别进样,结果显示,在与对照色谱相应的位置上,阴性供试品色谱图中无相应的色谱峰出现,表明制剂中其他药材对没食子酸的测定无干扰,所测样品中没食子酸与相邻杂质峰的分度符合规定。

3.8 样品含量测定

取不同批号的消炎抗菌片。按“2.2”项下的方法处理。10 μL 进样,用外标法计算没食子酸的含量。结果见表 1。

表 1 消炎抗菌片中没食子酸的含量测定 (*n* = 3)

Tab 1 The content of gallic acid of the Xiaoyankangjun tablets (*n* = 3)

批号	没食子酸含量/(mg/片)	RSD/%
041011	3.55	1.41
040901	4.02	1.09
050304	4.00	1.58
050401	4.07	0.93

4 讨论

4.1 流动相的选择

本试验曾分别选用了水-甲醇(95:5)和(98:2)、水-乙腈(95:5)和(97:3)、1%冰醋酸水溶液-甲醇(95:5)、1%冰醋酸水溶液-乙腈(95:5)作为流动相。结果表明,前两者样品中没食子酸峰形较好,但出峰时间太早(大约在2.5 min),且与相邻的杂质峰始终不能达到较好的分离效果,影响含量测定;而后两者样品中没食子酸与相邻色谱峰出峰时间仍太早,且基线不稳、峰形不好。根据文献^[4],发现甲醇-0.025 mol·L⁻¹磷酸水溶液(10:90)出峰时间合适,峰形较好,故作为本方法的流动相。

4.2 测定波长的选择

用流动相配制没食子酸对照品溶液,进行200~600 nm紫外吸收扫描,其最大吸收波长为215 nm和280 nm,且215 nm处摩尔吸收系数很大。由于215 nm波长处,没食子酸吸收更灵敏,可减少样品取样量,尽量减少色谱柱的污染,且基线平稳,阴性对照无干扰,故选定215 nm为测定波长。

4.3 实验发现,没食子酸见光不稳定,随着时间的延长,没食子酸很容易转变为其他物质,在高效液相色谱的图谱中表

现是,在没食子酸峰的前、后各有一个杂质峰。若将没食子酸标准品溶液放置在室温下且无避光的条件下,1 d后再次进样,杂质峰更加明显。故在测定没食子酸的含量时,标准溶液和样品液均应避光保存,尽早测定。

参考文献

- [1] YANG K Z, HE G M, CAI H S. Hospital Preparations and Analysis(医院制剂与检验)[M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1995: 308-309.
- [2] JI Y B. Pharmacological Effects and Application of the Active Components of the Traditional Chinese Medicine(中药有效成分药理与应用)[M]. Harbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1995: 203.
- [3] XU M X, SONG J C, ZENG J F, et al. Determination of Baicalin in Xiaoyankangjun Tablets by RP-HPLC[J]. China Pharm(中国药师), 2005, 8(5): 382-383.
- [4] DENG K Y, LIANG Y L, QIN J. Determination of Gallic Acid in Jiechangning Suppositories by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2000, 20(6): 406-408.

收稿日期: 2006-05-22