

HPLC 测定维磷补汁中咖啡因含量

张招忠 项凡英 张招香(金华 321053 浙江奥托康制药集团股份有限公司)

摘要 目的: 建立一个用高效液相色谱法测定维磷补汁中咖啡因含量的方法。方法: 以 C_{18} 为色谱柱, 乙腈-水(15: 85) 为流动相, 紫外检测波长为 272 nm。结果: 咖啡因在浓度为 0.01~0.20 g/L 间线性关系良好($r=0.9999$)。重复进样日内 RSD=0.24% ($n=6$)、日间 RSD=0.59% ($n=5$), 平均回收率为 100.19% ($n=5$)。结论: 方法简便快速, 结果准确可靠, 可用于常规质量检测。

关键词 高效液相色谱法; 维磷补汁; 咖啡因

Determination of caffeine in syrupus vitam in B₁ et glyceerophosphatis by HPLC

Zhang Zhaozhong, Xiang Fanyin and Zhang Zhaoxiang(Zhejiang AOTUOKANG Pharmaceutical(Group) Co., Ltd.

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A high-performance liquid chromatography method was developed for the determination of caffeine in syrupus vitamini B₁ et glycerophosphatis. **METHOD:** The separation was on an analytical C₁₈ column. The mobile phase was acetonitrile-water (15: 85). The UV detection wavelength was set at 272 nm. **RESULTS:** There was a good linear relationship between the peak areas and the concentrations in range of 0.01 ~ 0.20 g/L with $r = 0.9999$. The relative standard deviation of within-day and between-day were 0.24% and 0.59%, respectively. The average recovery was 100.19% ($n = 5$). **CONCLUSION:** The method was simple, accurate, reliable, and can be used for the quality control of syrupus vitamini B₁ et glycerophosphatis.

KEY WORDS HPLC, syrupus vitamini B₁ et glycerophosphatis, caffeine

维磷补汁是一种神经系统滋补剂。处方中主要含咖啡因、液状甘油磷酸钠、维生素 B₁、烟酸、磷酸、马钱子酊、姜酊、蔗糖、焦糖等。主要用于神经衰弱引起的头晕目眩、精神疲倦、记忆力减退等。地方标准规定中咖啡因含量用氯仿提取后与生物碱沉淀剂碘-碘化钾反应, 滴定剩余碘测得其含量(浙江省卫生厅, 浙江省药品标准, 杭州: 浙江省科学技术出版社, 1993: 628)。但该法操作繁琐, 且其他成份干扰测定。本文试用高效液相色谱法测定其含量, 可消除干扰, 结果准确, 方法简便。

1 仪器与试剂

美国 SSI 高效液相色谱仪, 配置有 222D 泵, 500 型 UV-VIS 检测器, Rheodyne 7010 进样阀, Chrom king 工作站。乙腈(HPLC 级, 上海青埔合成试剂厂)。水为经 0.45 μm 滤过的重蒸水。甲醇(AR 级, 市购)。咖啡因(杭州民生药厂, 批号 981202, 含量为 99.87%)。液状甘油磷酸钠、维生素 B₁、烟酸、磷酸、马钱子酊、姜酊、蔗糖、焦糖等均为药用原料。维磷补汁: 本厂生产。

2 实验方法与结果

2.1 反相高效液相色谱条件与系统适用性试验

色谱柱 C₁₈: 4.6 × 150 mm (Phenomenex Prodigy 5)。流动相: 乙腈-水(15: 85, v/v)。流速: 0.6 mL/min。柱温: 室温。紫外检测波长: 272 nm。进样量: 20 μL。

按上述色谱条件注入维磷补汁溶液及空白样品溶液(按处方配制, 去除咖啡因制得的样品), 记录色谱图。结果表明维磷补汁中咖啡因与其他成份峰之间分离良好, 保留时间约为 5.6 min, 空白样品各组分峰对咖啡因的测定无干扰影响。按咖啡因峰计算理论塔板数为 4960。

2.2 标准曲线的绘制

精密称取经 105℃ 干燥至恒重的咖啡因原料约 100 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 用 50% 甲醇制成 1.0 g/L 的溶液作为对照品溶液。

精密量取对照品溶液 0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 5.0 mL, 10.0 mL 分置于 50 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。照上述色谱条件进行测定。以样品峰面积对样品浓度 C(g/L) 进行线性回归, 得方程:

$$Y = 23569 + 56562966 \times C \quad r = 0.9999$$

实验结果表明: 咖啡因浓度在 0.01 ~ 0.20 g/L 范围内,

线性关系良好。

2.3 精密度的试验

量取维磷补汁适量, 用 50% 甲醇稀释成含咖啡因 0.10 mg/mL 的溶液。过滤, 按本法条件测定, 日内重复进样 6 次得日内精密度 RSD = 0.24%。同一样品连续 5 天测定得日间精密度 RSD = 0.59%。结果表明本系统稳定。

2.4 回收率试验

取空白样品溶液 5 mL (共 5 份) 于 50 mL 容量瓶中, 各精密加入对照品溶液 5.0 mL (1.0 mg/mL) 制成供试液, 经 0.45 μm 膜滤过, 取续滤液 20 μL 按 2.2 项下的方法测定。咖啡因的平均回收率为 100.19%, RSD 为 0.30% (见表 1)。

表 1 回收率试验结果($n = 5$)

加入量 (mg/mL)	测得量 (mg/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.0932	0.0936	100.43		
0.0932	0.0934	100.21		
0.0932	0.0929	99.68	100.19	0.30
0.0932	0.0935	100.32		
0.0932	0.0935	100.32		

结果表明维磷补汁中其他成份对咖啡因含量测定无干扰。

2.5 样品含量测定

精密量取维磷补汁 5.0 mL, 置 50 mL 容量瓶中以 50% 甲醇稀释成含咖啡因 0.10 mg/mL 的溶液, 按 2.4 项下的方法测定, 将测定结果与标准法^[1]比较(见表 2)。

表 2 样品测定结果

批号	本法($n = 3$) $\bar{X} \pm S(\%)$	标准法($n = 1$) (%)
991114	92.95 ± 0.13	102.86
991122	93.60 ± 0.01	104.41
991123	97.10 ± 0.06	107.18

结果表明标准法比本法测定结果高约 10%。

3 小结

3.1 波长选择: 取咖啡因适量, 用流动相稀释成 0.02 mg/mL 的溶液于 $400 \sim 200 \text{ nm}$ 范围内进行扫描, 得最大吸收波长为 272 nm 。

3.2 流动相条件: 曾试用甲醇-水, 甲醇-水-醋酸铵等系统, 但均不如乙腈-水(15: 85)系统分离效果好, 且柱压低。

3.3 标准法测定咖啡因因为使用大量氯仿提取后测定。操作繁琐, 马钱子酊等其他成份干扰测定, 使结果偏高。本法采用的方法可消除干扰, 且流动相组成简单, 直接量取样品稀释即可测定, 方法简便, 可用于本品的常规检测。

收稿日期: 2000-01-19