

高效液相色谱法测定盆炎净片中咖啡酸的含量

宁康健¹, 冯惠平², 何胜利²

(1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 天津药业集团新郑股份有限公司, 河南 新郑 451150)

[摘要] 目的:应用高效液相色谱法测定盆炎净片(PYJP)中咖啡酸的含量。方法:采用 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-磷酸盐缓冲液(23:77)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 323 nm。结果:咖啡酸在 0.072 96 ~ 0.437 76 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 99.10%, RSD 1.22% ($n=5$)。结论:该方法测定结果准确、灵敏、重复性好。

[关键词] 盆炎净片; 咖啡酸; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0080-02

Determination of Caffeic Acid in PYJP by HPLC

NING Kang-jian¹, FENG Hui-ping², HE Sheng-li²

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China;

2. Tianjin Pharmaceutical Group Xinzheng Co., Ltd., Xinzheng 451150, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of the content of caffeic acid in PYJP.

Method: An C₁₈ column was used as the chromatographic column. The mobile phase consisted of methanol-phosphate buffer (23:77), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was at 323 nm. **Result:** There was a good linear relationship between the concentration of caffeic acid and peak area value when the concentrations of caffeic acid was within the range of 0.072 96-0.437 76 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 99.10%, RSD 1.22% ($n=5$). **Conclusion:** The method was accurate, sensitive, reproducible and may be used in the determination of caffeic acid in PYJP

[Key words] PYJP; caffeic acid; HPLC; determination

本品为中药复方制剂, 蒲公英为方中主要药味之一, 因此为保证临床疗效, 我们采用高效液相色谱法对蒲公英中咖啡酸进行含量测定, 以控制本品的内在质量。

1 仪器与试剂

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10AVP 紫外可见检测器; ANASTAR 色谱数据工作站; 咖啡酸对照品(批号为 885-200701, 中国药品生物制品检定所); 甲醇(色谱纯, 北京益利精细

化学品有限公司); 磷酸(分析纯, 信阳市化学试剂厂); 甲酸(分析纯, 江苏省沛县东方化工厂); 重蒸馏水等。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 甲醇-磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钠 1.56 g, 加水使溶解成 1 000 mL, 再加 1% 磷酸溶液调节 pH 至 3.8 ~ 4.0, 即得)(23:77)为流动相; 检测波长为 323 nm; 柱温 40 °C; 流速 1.0 mL·min⁻¹。按此条件测定, 供试液中咖啡酸吸收峰可达到基线分离。理论塔板数按咖啡酸峰计算应不低于 3 000。

2.2 检测波长的选择 取咖啡酸对照品适量, 加甲醇溶解制成 25 mg·L⁻¹ 的溶液, 照紫外-可见分光光

[收稿日期] 2010-04-06

[基金项目] 天津市卫生局中西医结合资助课题(07018)

[第一作者] 宁康健, 教授, Tel: 0550-6733113; E-mail: nkj2101@sohu.com

度法《中国药典》2005 年版一部附录 V A^[1], 在 190 ~ 370 nm 波长处进行紫外扫描, 结果咖啡酸在 323 nm 处有最大吸收, 参照《中国药典》2005 年版一部蒲公英的含量测定方法^[1], 故选用 323 nm 作为检测波长。

2.3 对照品溶液的制备^[2-5] 精密称取咖啡酸对照品 1.52 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 24.32 mg·L⁻¹ 的溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取 0.8 g, 精密称定, 精密加入 5% 甲酸的甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 5% 甲酸的甲醇溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.5 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除蒲公英以外的其余药味, 按制备工艺制成缺蒲公英的阴性样品, 按上述供试品制备方法制成缺蒲公英的阴性溶液。

2.6 线性关系考察 分别精密吸取咖啡酸对照品溶液 (0.024 32 g·L⁻¹) 3, 6, 9, 12, 15, 18 μL 按拟定的色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制标准曲线, 结果表明, 咖啡酸在 0.072 96 ~ 0.437 76 μg 进样量与峰面积之间线性关系良好。

2.7 阴性对照试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行分析, 结果供试品溶液色谱中, 在与咖啡酸对照品相同保留时间处有吸收峰, 而阴性对照溶液在与咖啡酸对照品相同保留时间处未显吸收峰。故认为无干扰。

2.8 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 按上述色谱仪条件测定咖啡酸的峰面积, 结果表明, 本方法精密度良好, RSD 为 0.23%。

2.9 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 按上述色谱条件分别于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 精密吸取 10 μL 测定其峰面积, 考察样品溶液的稳定性, 结果表明, 供试品溶液 8 h 内基本稳定, RSD 为 0.19%。

2.10 重复性试验 取同一批样品, 按上述方法制备 5 份供试品溶液, 分别测定其含量, 结果表明, 本方法重复性较好, RSD 为 2.24%。

2.11 回收率试验 取已知含量的同一批号的样品 (0.768 mg·g⁻¹), 除去包衣, 研细, 取 0.4 g, 精密称定, 分别精密加入咖啡酸对照品溶液 (0.291 84 g·L⁻¹) 各 1 mL, 按供试品溶液制备方法制成加样供试液。精密吸取加样供试液 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述方法测定, 计算回收率, 结果表明, 本法具有良好回收率, 见表 1。

表 1 咖啡酸回收率试验

取样量 /g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值/%	RSD/%
0.401 1	0.308 04	0.291 84	0.594 36	99.08		
0.400 3	0.307 43	0.291 84	0.604 78	100.92		
0.401 3	0.308 20	0.291 84	0.589 54	98.25	99.10	1.22
0.400 8	0.307 81	0.291 84	0.596 35	99.45		
0.399 2	0.306 59	0.291 84	0.585 20	97.79		

2.12 样品测定 取 3 批样品, 按上述供试品溶液制备方法制备, 测定并计算本品中的咖啡酸含量, 结果批号 080807, 080809, 080811 3 批样品的咖啡酸含量分别为 0.315, 0.308, 0.320 mg/片, 根据以上测定结果, 暂定本品中含蒲公英以咖啡酸计, 不得少于 0.30 mg/片。

3 讨论

试验结果表明, 此法可靠、准确、方便、快速。试验中分别对超声 20, 30, 40 min 进行试验, 结果表明超声 30 min 和 40 min 结果相差不大, 超声 30 min 咖啡酸就能完全溶出, 而超声 20 min 明显低于超声 30 min 和超声 40 min, 因此选择 30 min 为咖啡酸的提取时间。

[参考文献]

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005; 244, 附录 28.
- [2] 尹伟, 岳春华, 雷伟, 等. 益炎净片的质量控制[J]. 中南药学, 2007, 5(3): 77, 246.
- [3] 姜志戎. 益炎净糖浆的制备与质量要求简介[J]. 中医临床杂志, 2007, 19(2): 182.
- [4] 赵艳波, 李春来, 孙冬梅. 高效液相色谱法测定小败毒膏中咖啡酸的含量[J]. 中国中医药杂志, 2007, 5(11): 22.
- [5] 袁小波, 孟芹, 袁文娟. 高效液相色谱法测定感冒消炎片中咖啡酸含量[J]. 中国药业, 2007, 16(7): 21.

[责任编辑 顾雪竹]