

# RP-HPLC 法测定苏孜阿甫片中没食子酸的含量

毛艳, 严欢, 贺金华\*, 黄毅, 康雨彤

(新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 采用 RP-HPLC 法建立苏孜阿甫片中没食子酸的含量测定方法。方法: 甲醇-四氢呋喃-磷酸-水(0.5:0.2:0.5:99) 流动相, YMC-Pack ODS-A(6.0 mm ×150 mm, 5 μm) 色谱柱, 检测波长 270 nm, 柱温 35℃, 流速为 0.7 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 没食子酸在 10.4~83.2 μg·mL<sup>-1</sup> 线性关系良好,  $r=0.9998$  ( $n=5$ ), 平均回收率 102.4% ( $n=9$ , RSD 1.1%)。结论: 该方法简便易行, 重复性好, 结果准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 苏孜阿甫片; 没食子酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0049-02

苏孜阿甫片主要由芸香草、紫草、苦艾 3 味药材组成, 经一定的制剂工艺提取后加适量赋形剂研制而成, 临床用于动脉硬化、冠心病、肝脏疾病等的治疗<sup>[1]</sup>。由于这 3 种药材中均含没食子酸, 而没食子酸的药理作用与苏孜阿甫片的临床应用相关, 故选择没食子酸做为含量测定指标, 测定其中没食子酸的含量。笔者在实验中建立的高效液相测定法具有简便、快速、准确、重复性高等特点, 可用于该制剂的质量控制。

## 1 仪器与试药

Shimadzu 全自动液相色谱仪(紫外检测器, LC-2010C 系统控制器); Shimadzu CLASS-VP V6.14 SP1 数据工作站。

没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110831-200302), 苏孜阿甫片 3 批样品(本室自制); 甲醇为色谱纯, 四氢呋喃和磷酸为分析纯, 水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱(YMC-Pack ODS-A, 6.0 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-四氢呋喃-磷酸-水(0.5:0.2:0.5:99); 流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 270 nm; 柱温 35℃; 进样量 10 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取没食子酸对

照品适量, 加流动相溶解成每 1 mL 含没食子酸 0.208 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品 20 片, 除去包衣, 取 5 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加 2% 冰醋酸甲醇溶液 50 mL, 水浴回流 3 h, 抽滤, 残渣用适量甲醇冲洗, 滤液挥干, 残渣加流动相, 超声 10 min 溶解并转移至 25 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 取处方中缺药材的辅料, 依供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

**2.3 系统适用性实验** 依“2.2.2”项下方法进行系统适用性实验, 结果没食子酸理论塔板数为 7340, 分离度为 2.1, 拖尾因子为 1.02, 均符合药典规定。

**2.4 专属性实验** 依“2.2”项下方法进行制备样品溶液, 依法进行测定, 记录色谱图。图谱显示阴性无干扰, 见图 1。

**2.5 线性关系考察** 分别精密量取没食子酸对照品贮备溶液(0.208 mg·mL<sup>-1</sup>) 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得系列标准溶液, 依测定法进行测定。以对照品浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 回归方程为:  $Y=5E+07X-26925$ , 相关系数  $r=0.9998$  ( $n=5$ )。结果表明, 没食子酸在 10.4~83.2 μg·mL<sup>-1</sup>, 峰面积与浓度呈良好的线性关系。

**2.6 检测限和定量限的考察** 取没食子酸对照品溶液, 用流动相依次稀释制成一系列溶液, 按信噪比(S/N)为 3 测得没食子酸检测限为 80.3 ng·mL<sup>-1</sup>; 按信噪比(S/N)为 10 测得没食子酸定量限为 250.9 ng·mL<sup>-1</sup>。

[收稿日期] 2009-09-27

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技基础平台建设项目 (PT0708)

[通讯作者] \* 贺金华, Tel: (0991) 2326572; E-mail: hejinhua9988@hotmail.com

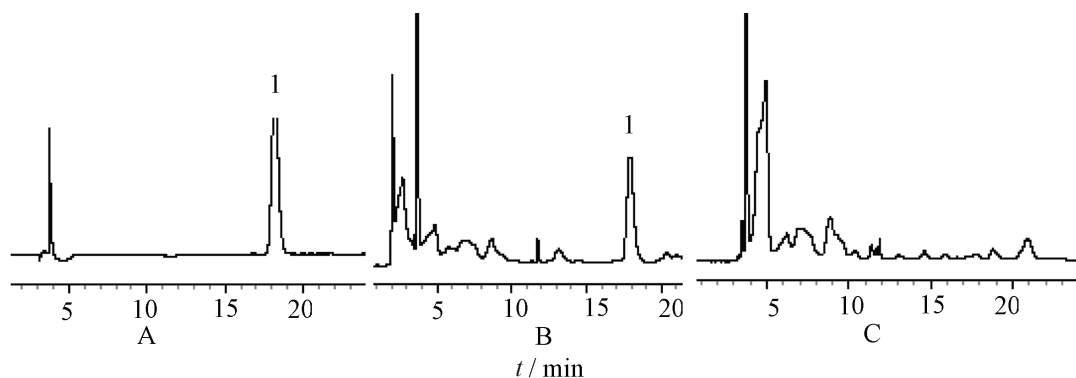


图 1 没食子酸对照品(A)、苏孜阿甫片(B)和阴性样品(C)色谱图

**2.7 精密度实验** 取同一供试品溶液,依测定法连续进样 6 次,记录峰面积,结果没食子酸峰面积 RSD 0.15%。

**2.8 重复性实验** 取同一批样品,平行制备 6 份,依测定法进行测定,结果没食子酸含量 RSD 0.89%。

**2.9 供试品溶液稳定性实验** 取供试品溶液在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 分别进样测定没食子酸含量,考察其 24 h 内稳定性。结果没食子酸含量 RSD 1.9%,其峰形和含量变化不大,表明溶液在 24 h 稳定。

**2.10 加样回收率实验** 精密称取已知含量的供试品 2.5 g,精密称定,共 9 份,3 份为 1 组,分别加入一定量的没食子酸对照品溶液,依法进行测定,结果见表 1。

表 1 没食子酸加样回收率实验

No.	取样量 /g	样品含量 / $\mu\text{g}$	对照品加入量 / $\mu\text{g}$	测得量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	2.50043	193.1	125	321.5	102.7		
2	2.50031	193.1	125	320.8	102.2		
3	2.50019	193.1	125	319.3	101.0		
4	2.50007	193.1	208	411.6	104.1		
5	2.50046	193.1	208	403.3	101.1	102.4	1.1
6	2.50015	193.1	208	405.2	102.0		
7	2.50011	193.1	291	493.1	103.1		
8	2.50005	193.1	291	488.3	101.4		
9	2.50018	193.1	291	495.2	103.8		

**2.11 3 批供试品含量测定** 取 3 批样品,依法进行含量测定,结果苏孜阿甫片中没食子酸的质量分数分别为 90.5, 89.5, 88.3  $\mu\text{g}/\text{片}$ 。

### 3 讨论

本实验考察了甲醇-四氢呋喃-冰乙酸-水(0.1 0.5 2 97.4)为流动相时<sup>[2]</sup>,出峰时间较快,分离度也不好;甲醇-四氢呋喃-0.2%磷酸(0.5 0.5 99)为

流动相时<sup>[3]</sup>,峰较宽。当采用甲醇-四氢呋喃-磷酸-水(0.5 0.2 0.5 99)<sup>[4]</sup>时没食子酸与其相邻峰的分离度较好,无拖尾现象,且无其它峰干扰,操作简便实用。

实验过程中考察了样品的不同处理方法,采用盐酸回流处理时供试品溶液的黏度过大,无法准确定容,没食子酸含量偏低,且峰形不好,分离效果差。用甲醇超声处理样品时,峰形较好,但分离效果差,含量较前方法有所提高。用 2% 冰醋酸甲醇超声处理样品时峰形及分离效果都较好,但供试品溶液颜色过深,色素含量高,时间长会污染堵塞预柱筛板,并使柱子压力升高,且重复性不好,含量差异大。当采用 2% 冰醋酸甲醇回流处理 3 h,残渣超声处理 10min 后的供试品溶液峰形及分离效果较好,含量较高而颜色较浅。

本文采用 RP-HPLC 法测定了苏孜阿甫片中没食子酸的含量,处理方法便捷,测定结果准确可靠,可以作为苏孜阿甫片生产过程的质量控制指标。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 维吾尔药分册. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 135.
- [2] 马潇, 宋玉成, 谢楠, 等. HPLC 法测定大花红景天中红景天苷及没食子酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(1): 58.
- [3] 何迅, 李勇军, 刘丽娜, 等. RP-HPLC 法测定地稔药材中没食子酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(3): 180.
- [4] 艾合买提, 努尔尼沙, 米热古丽. 复方没食子滴鼻剂的提取工艺研究[J]. 中成药, 2000, 22(11): 814.