

HPLC法测定腹痛水中儿茶的含量

洪建文¹,叶曼红²,贾宜军¹

(1. 广东省药品检验所,广东广州 510180; 2. 广东化工制药职业技术学院,广东广州 510520)

摘要 建立了高效液相测定腹痛水中儿茶素和表儿茶素含量的方法。色谱柱: SHMADZU VP-ODS C₁₈ (250 mm ×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.04 mol/L 枸橼酸溶液 - N,N-二甲基甲酰胺 - 四氢呋喃 (45:8:2, V/V); 流速 1.0 ml/min; 柱温 35 °C; 检测波长 280 nm。儿茶素在 0.008 ~ 7.8 mg/ml, 表儿茶素在 0.006 ~ 5.2 mg/ml 质量浓度范围内与峰面积均呈良好的线性关系 (r=1.0000)。儿茶素和表儿茶素平均加样回收率分别为 98.95%, RSD=0.88% (n=6) 和 99.91%, RSD=1.01% (n=6)。该方法简便、重现性好、灵敏度高, 可用于腹痛水的质量控制。

关键词 儿茶素; 表儿茶素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2007)09-1171-02

腹痛水是由儿茶酚、辣椒酚、蟾酥酚、薄荷油制成的酊剂, 用于胃痛、腹痛, 恶心腹胀, 呕吐泄泻, 急性胃肠炎, 胃痉挛等症。该药现行的质量标准无含量测定项目。为了更好地控制本产品质量, 提高中成药的质量标准, 保证产品的疗效。本文针对其主要药儿茶中的药效成分儿茶素和表儿茶素, 参考中国药典^[1]及相关文献^[2-4], 建立了高效液相色谱法测定腹痛水中儿茶素和表儿茶素的含量的方法。

1 仪器与试剂

Waters 2695/2487 高效液相色谱仪, Agilent 1100 高效液相色谱仪, Agilent 1200 高效液相色谱仪, BP211D 电子天平。

儿茶素 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 877-200001, 纯度为 100%, 供含量测定用); 表儿茶素 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110878-200102, 纯度为 100%, 供含量测定用)。腹痛水为汕头经济特区仙乐制药有限公司提供 (批号: 050501、050502、050701、050901、051001、060101、060102、060201、060301、060401, 规格 100 ml/瓶)。四氢呋喃和 N,N-二甲基甲酰胺为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: SHMADZU VP-ODS C₁₈ (250 mm ×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.04 mol/L 枸橼酸溶液 - N,N-二甲基甲酰胺 - 四氢呋喃 (45:8:2, V/V); 流速 1.0 ml/min; 柱温 35 °C; 检测波长 280 nm; 进样: 20 μl。理论板数按儿茶素峰计算应不低于 3000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取儿茶素对照品、表儿茶素对照品, 加甲醇水 (1:1) 分别制成每 1 ml 含儿茶素 0.75 mg, 表儿茶素 0.5 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品 10 ml, 置 20 ml 量瓶中, 加甲醇水 (1:1) 至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 专属性考察 精密吸取缺儿茶酚阴性对照溶液, 供试品溶液和对照品溶液各 20 μl, 注入高效液相色谱仪, 按含量测定的方法测定。结果未见阴性对照溶液对试验有干扰。

2.5 线性关系考察 精密称取儿茶素和表儿茶素对照品适量, 制成各不同浓度的标准溶液。分别精密吸取 20 μl, 注入高效液相色谱仪, 记录峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。儿茶素回归方程为: $Y = 13152.1827X + 108.2657$, 相关系数 $r = 1.0000$; 表儿茶素回归方程为: $Y = 13658.0596X + 4.0096$, 相关系数 $r = 1.0000$ 。结果表明, 在儿茶素浓度为 0.008 ~ 7.8 mg/ml 和表儿茶素浓度为 0.006 ~ 5.2 mg/ml 范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 6 份, 重复进样 6 次, 测得峰面积, 计算精密度, 儿茶素 RSD=0.5% (n=6), 表儿茶素 RSD=0.6% (n=6)。

2.7 稳定性试验 分别精密吸取同一供试品溶液, 于配制后 0~12 h 内每隔 1 h 进样测定, 测得峰面积, 计算精密度, 结果儿茶素 RSD=0.6% (n=12), 表儿茶素 RSD=0.7% (n=12), 供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批供试品 6 份, 按上述方法测定, 结果儿茶素平均含量为 2.01 mg/ml, RSD=0.87%, 表儿茶素平均含量为 1.04 mg/ml, RSD=0.94%, 表明本法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 采用加样回收法, 取已知儿茶素和表儿茶素含量的供试品溶液, 分别加入一

定量儿茶素和表儿茶素对照品,混匀,平行 6 份,制成回收率测定溶液过滤,取续滤液测定,按测定法测定,分别计算儿茶素和表儿茶素回收率。儿茶素的平均回收率为 98.95%,RSD = 0.88% (n = 6);表儿茶素的平均回收率为 99.91%,RSD = 1.01% (n = 6)。

2.10 加样回收率试验 采用加样回收法,按样品含量的 60%,200%进行回收率试验,取已知儿茶素和表儿茶素含量的供试品溶液,分别加入一定量儿茶素和表儿茶素对照品,混匀,平行 6 份,制成回收率测定溶液过滤,取续滤液测定,按测定法测定,分别计算儿茶素和表儿茶素回收率。儿茶素含量 60%的平均回收率为 100.47%,RSD = 0.30% (n = 6);含量 200%的平均回收率为 98.07%,RSD = 0.57% (n = 6);表儿茶素含量 60%的平均回收率为 99.02%,RSD = 0.45% (n = 6);含量 200%的平均回收率为 97.72%,RSD = 0.44% (n = 6)。

表 1 供试品含量测定的结果

批号	儿茶素含量 (mg/ml)	表儿茶素含量 (mg/ml)	总含量 (mg/ml)
050501	2.11	1.15	3.26
050502	2.20	1.18	3.38
050701	1.50	0.84	2.34
050901	2.42	1.23	3.65
051001	1.99	1.05	3.04
060101	2.27	1.31	3.58
060102	1.30	0.80	2.10
060201	1.78	1.04	2.82
060301	1.83	1.17	3.00
060401	2.06	1.19	3.25

2.11 中间精密度试验 取同一批供试品(批号 051001)6 份,分别用 3 台设备 3 人,不同时间,按方法测定。结果儿茶素和表儿茶素含量结果的 RSD 分别 0.58%和 1.08%,中间精密度良好。

2.12 样品测定 取供试品 10 批,按方法测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 腹痛水为含有多种成分的中成药,儿茶作为其主要成分,在原质量标准中未进行含量测定。为提高药品质量,同时为加强生产过程与工艺控制提供技术数据,本文建立了专属性好、简便、准确的测定腹痛水中儿茶素和表儿茶素含量的高效液相色谱法。该方法可有效控制其质量,提高了原质量标准。

3.2 研究中发现,柱温的改变对分离影响不大。流动相中,当有机相比例增加 5%,主峰与杂质峰分离度下降,不能达到基线分离,因此要控制好有机相比例。本文还考察了三种不同品牌填料色谱柱对测定结果的影响,试验结果表明在确定的色谱条件下,主峰与杂质峰分离度均可达到要求,理论板数按儿茶素计算均不低于 3000,含量测定结果的 RSD 均小于 1.5%。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 9.
- [2] 王淑敏, 李惠琳. 儿茶药材中儿茶素和表儿茶素的高效液相色谱法分析研究. 时珍国医国药, 2006, 17(4): 490.
- [3] 宋粉云, 毋福海. HPLC 测定万应胶囊中儿茶素、表儿茶素和盐酸小檗碱的含量. 中成药, 2006, 28(6): 806.
- [4] 颜学伟. 高效液相色谱法测定万应锭中儿茶素和表儿茶素含量. 中国中医急症, 2005, 14(11): 1098.

(2007 - 05 - 28 收稿)

本刊加入“万方数据——数字化期刊群”的声明

为了实现科技期刊编辑、出版发行工作的电子化,推进科技信息交流的网络化进程,本刊现已入网“万方数据——数字化期刊群”,所以,向本刊投稿并录用的文章,将一律由编辑部统一纳入“万方数据——数字化期刊群”,进入因特网提供信息服务。凡有不同意见者,请另投它刊或特别声明需另作处理。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。

“万方数据——数字化期刊群”是国家“九五”重点科技攻关项目。本刊全文内容按照统一格式制作,读者可上网查询浏览本刊内容,并征订本刊。