

HPLC 法测定泌淋颗粒中没食子酸的含量

方 灿, 童 红 (贵州省药品检验所, 贵阳 550004)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定泌淋颗粒中没食子酸的含量。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱; 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (1:99) 为流动相; 检测波长为 272nm。结果 泌淋颗粒在 0.1290~1.290 μ g 范围内线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.66%, RSD=2.63% ($n=6$)。结论 该方法简便, 分离效果好, 可用于泌淋颗粒质量控制。

关键词: 泌淋颗粒; 没食子酸; HPLC

中图分类号: 文献标识码: 文章编号: 1002-7777 (2009) 11-1107-03

Determination of Gallic Acid in Milin Granules by HPLC

Fang Can and Tong Hong (Guizhuo Institute for Drug Control, Guiyang 550004)

ABSTRACT: **Objective** To establish a HPLC method for the determination of gallic acid in Milin Granules. **Methods** A C₁₈ column was used. The mobile phase was methanol-0.4% phosphate (1:99). Content was detected at a wavelength of 272nm. **Results** The linear rang was 0.1290~1.290 μ g, $r=0.9999$. The average recovery rate was 99.66%, RSD = 2.63% ($n=6$). **Conclusions** This method is convenient with a good separating degree and can be used for the quality control of Milin Granules.

KEY WORDS: Milin Granules; gallic acid; HPLC

泌淋颗粒收载于国家药品标准^[1], 具有清热解毒, 利湿通淋之功效, 临床上用于泌尿系感染等疾病的治疗。由头花蓼、车前草、酢浆草、石椒草四味药组成, 标准中该制剂项下仅有 TLC 鉴别, 无含量测定项。方中头花蓼为主药, 其主要活性成分为没食子酸^[2-3]。目前, 文献报道的没食子酸定量分析方法多采用高效液相色谱法^[4-12]测定。以没食子酸作为质量控制的指标, 建立高效液相色谱法测定泌淋颗粒中没食子酸含量测定方法, 则可以建立较为有效可靠的质量标准, 对于生产和使用中的质量检验和控制, 都有较大的意义。本法操作简便, 精密度高, 分离良好。

1 仪器、试剂及试剂

LG-10Avp 高效液相色谱仪及其色谱数据工作站; METTLER TOLEDO 电子天平; CHXIN-CH-300 型超声震荡仪。没食子酸对照品 (批号: 110831-200302, 中国药品生物制品检定所); 泌淋颗粒 (10 批, 具体批号见表 2)、泌淋颗粒阴性样品

(缺头花蓼, 贵州百祥制药有限责任公司); 甲醇、乙腈 (色谱纯); 磷酸 (分析纯); 水 (重蒸水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6mm \times 150mm, 5 μ m, 迪马公司生产), 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (1:99), 检测波长: 272nm, 流速: 1.0mL \cdot min⁻¹。柱温: 30 $^{\circ}$ C, 进样量: 10 μ L。在上述色谱条件下, 没食子酸峰与其他相邻峰基线分离, 其分离度在 1.5 以上, 分离度符合要求。理论板数为 3000 以上。

2.2 线性关系考察

精密称取没食子酸对照品 0.01290g, 置 100mL 量瓶中, 加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液 (0.1290mg \cdot mL⁻¹)。精取上述对照品溶液分别用 75% 甲醇稀释制成 0.01290、0.02580、0.05160、0.07740、0.1290mg \cdot mL⁻¹ 的对照品溶液。分别各吸取 10 μ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以进样量 (μ g) 为横坐标, 峰面积

(A) 为纵坐标。绘制标准曲线, 计算回归方程:

$$Y = 2.435 \times 10^7 X + 1.535 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

没食子酸在 0.1290~1.290 μg 范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验

取对照品溶液 (51.60 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 重复进样 6 次, RSD 为 0.75%, 表明精密度良好。

2.4 重复性考察

取供试品 (20070801) 0.6g, 6 份, 精密称定, 照含量测定项下的方法测定, 平均含量为 2.11 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.00%。

2.5 稳定性考察

取供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、12h 进样, 测定峰面积, RSD 为 0.61%, 供试品溶液在 12h 内稳定。

2.6 加样回收试验

取已知含量供试品 (批号: 20070801) 0.3g 各 6 份, 精密称定, 置 25mL 量瓶中, 分别精密加入对照品溶液 (0.1290 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 5mL, 照含量测定项下的方法操作及测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收试验 ($n=6$)

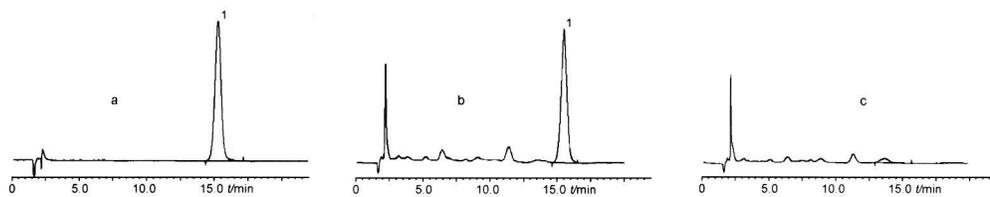
样品中的量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.6692	0.6450	1.3230	101.36	99.66	2.63
0.6103	0.6450	1.2398	97.60		
0.6382	0.6450	1.2700	97.95		
0.6946	0.6450	1.3548	102.35		
0.6107	0.6450	1.2327	96.44		
0.6039	0.6450	1.2636	102.27		

2.7 供试品含量测定

对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量, 精密称定, 加 75% 甲醇制成每 1mL 中含 50 μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备 取本品 0.6g, 精密称定, 置 25mL 量瓶中, 加 75% 甲醇约 20mL, 超声 (250W, 40KHz) 处理 1h, 放冷, 加 75% 甲醇稀释至刻度。摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 计算样品中没食子酸的含量, 结果见图 1、表 2。



a 对照品; b 供试品; c 阴性对照; 1 没食子酸。

图 1 泌淋颗粒 HPLC 色谱图

表 2 供试品含量测定结果 ($n=3$) $\text{mg} \cdot \text{袋}^{-1}$

批号	含量	批号	含量
20070101	5.06	20070602	7.31
20070201	5.04	20070701	5.02
20070303	13.7	20070801	12.6
20070401	5.23	20070802	11.5
20070501	7.02	20070803	11.7

3 讨论

3.1 流动相的选择

头花蓼为泌淋颗粒的君药, 没食子酸为头花蓼的主要活性成分之一^[2,3]。没食子酸的含量测定方法目前主要是高效液相色谱法^[4,12], 选择乙腈-0.4% 磷酸溶液 (5:95)、甲醇-0.025 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸溶液 (15:85)、甲醇-水-N,N-二甲基甲酰胺-冰乙酸 (1:81:15:3) 作为流动相测定供试品溶液, 没食子酸峰与其他相邻峰分离均不理想, 不适合泌淋颗粒中没食子酸的测定。经多次实验研究,

我们选择甲醇-0.4% 磷酸溶液 (1:99), 没食子酸与其它组分色谱峰分离良好。

3.2 溶剂的选择

泌淋颗粒由头花蓼等 4 味中药组成, 成分较为复杂, 我们曾用甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、甲醇-25% 盐酸 (4:1) 等溶剂^[4,12] 进行超声及回流提取没食子酸试验, 结果表明, 本文选择 75% 甲醇超声提取 1h 的方法可行, 所得供试品溶液其它杂质峰较少。同时对泌淋颗粒阴性样品 (缺头花蓼) 阴性溶液测定, 结果表明其他成分不干扰测定。

通过实验研究, 本文建立了泌淋颗粒中没食子酸含量的 HPLC 测定法, 方法简便并具有良好的准确性和重现性, 有利于药品的质量控制。泌淋颗粒各批号没食子酸含量差异较大, 系头花蓼药材中没食子酸含量差异造成, 我们将考察头花蓼药材中没食子酸含量情况并制定适宜的限量标准, 以确保产品质量的稳定性。(下转第 1091 页)

准, 以保证药包材检测仪器性能指标的合格性, 从而保证药包材检测数据的准确性和公正性。

5 应帮助药包材企业提高检验水平

行业质量控制水平的提高不仅应提高法定检测机构的检验水平, 更重要的是要加强和提高各生产厂家的检验能力。我国的药包材企业多为民营企业 and 私人企业, 起步晚、基础薄弱, 对质量检验不够重视, 人员专业素质差, 检验仪器设备的配备普遍不足, 相当多的企业仅配备一名检验人员, 并且检验人员缺乏检验基础知识和工作经历, 对检验标准的理解和掌握较差, 很不利于产品质量的把关。药包材检测机构应加强对药包材企业的检验技术培训工作, 并经常到药包材企业去了解情况, 实施现场指导, 帮助和促进药包材企业提高检验技术能力, 以保证在源头上把好药包材的质量关。

6 应开展药包材产品的监督性检验和评价性检验

由于药包材注册证的有效期限为 5 年, 如果仅仅在注册时对 3 批样品进行法定的检验显然很难保证 5 年间药包材产品的质量。在发生药害事件时, 我们也习惯性单一地分析药品的质量而忽略了药包材质量对药品的影响。这些都使得一些药包材厂家存在侥幸心理而更加淡化质量管理意识。只有开展适时、可行的监督性抽验和评价性抽验工作, 才能真正有效地保证药包材的质量控制, 从而保证临床用药安全。目前, 国内除一些医药业较发达的省市如北京、上海等地开展了对药包材的监督性抽验工作外, 大部分省市仅开展了注册检验和委托检验, 这就给药包材的质量监管留下了很大的真空区。我们迫切希望国家药监局能有计划、有针对性地组织

实施全国性的药包材监督检验及评价性检验, 以进一步提高我国药包材的整体质量水平。

参考文献:

- [1] 刘伟, 吴关明. 我国药包材的现状和监管对策 [J]. 医药导报, 2007, 26 (5): 571-573.
- [2] 医药信息. 解读国内医药包装市场 [EB/OL]. (2004-02-05) [2008-07-02]. http://www.library.hn.cn/jbzt/jb/bj_data/yyxx/yy25.htm#_Toc78174141.
- [3] 药品包装用材料、容器生产管理办法 [S]. 国家医药管理局令第 10 号, 1992.
- [4] 药品包装用材料、容器管理办法 (暂行) [S]. 国家药品监督管理局令第 21 号, 2000.
- [5] 药品管理法 [S]. 中华人民共和国主席令第 45 号, 2001.
- [6] 直接接触药品的包装材料和容器管理办法 [S]. 国家食品药品监督管理局令第 13 号, 2004.
- [7] 杨会英, 张庆生, 唐秋瑾. 药品包装材料和容器注册管理工作中的几点体会 [J]. 中国药事, 2006, 20 (6): 329-330.
- [8] 匡佩琳. 关于国家食品药品监督管理局“直接接触药品的包装材料和容器标准汇编”中存在的几个问题 [J]. 中国药品标准, 2005, 6 (4): 61-62.
- [9] 国家食品药品监督管理局. 直接接触药品的包装材料和容器标准汇编 [G]. 2002-2006: 第 1-6 辑.
- [10] 橡胶鉴定红外光谱法 GB/T 7764-2001 [S]. 2001.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 关于进一步加强直接接触药品的包装材料和容器监督管理的通知 [Z]. 国食药监注 [2004] 391 号, 2004.
- [12] 严瑾. 药品包装的现状及对未来之展望 [J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17 (5): 28-31.
- [13] GB/T 2828.1-2003 计数抽样检验程序第 1 部分: 按接收质量限 (AQL) 检索的逐批检验抽样计划 [S]. 2003.
- [14] 国家发展改革委, 财政部. 关于调整药品检验收费标准及有关事项的通知 [Z]. 发改价格 [2003] 213 号, 2003.

(上接第 1108 页)

参考文献

- [1] 国家药品标准 (试行) [S]. WS-10516 (ZD-0516)-2002, 2002.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 (下册) [M]. 北京: 北京人民出版社, 1978: 282-283.
- [3] 吴居, 王德仁. 石菖蒲化学成分的研究 [J]. 中草药, 1985, 16 (4): 5-6.
- [4] 王祥培, 万德光, 王强, 等. HPLC 测定不同产地的头花蓼中没食子酸的含量 [J]. 华西药理学杂志, 2007, 22 (2): 204-205.
- [5] 茅向军, 许乾丽, 熊慧林, 等. 高效液相色谱法测定热淋清颗粒中没食子酸的含量 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (8): 589-591.
- [6] 沙明, 曹爱民, 汪冰, 等. 高效液相色谱法测定地颗粒榆中没食子酸的含量 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24 (2): 99-100.
- [7] 潘国庆, 冯学梅, 马玉花. HPLC 测定藏成药仲泽八味沉香散中没食子酸的含量 [J]. 华西药理学杂志, 2006, 21 (4): 388-389.
- [8] 许乾丽, 茅向军, 熊慧林, 等. HPLC 测定宁泌泰胶囊中没食子酸的含量 [J]. 中成药, 2001, 23 (9): 644-643.
- [9] 史亚军, 王梅, 刘世军. 热淋清糖浆的含量测定研究 [J]. 陕西中医学院学报, 2005, 28 (6): 47-48.
- [10] 赵世萍, 付桂香. 高效液相色谱法测定山茱萸中没食子酸含量 [J]. 中日友好医院学报, 1998, 12 (1): 327-328.
- [11] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 565-566.
- [12] 国家医药局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 479-479.