

心脑血管胶囊的高效液相色谱法测定

戴其昌(湖州 313000 浙江湖州市药检所)

摘要 目的:建立测定心脑血管胶囊的高效液相色谱法。方法:以 Nova-pack C_{18} (200 × 4.6mm, 4 μ m) 为分析柱, 甲醇-0.04mol/L 磷酸-乙腈(45:50:5) 为流动相, 检测波长:254nm, 峰面积外标法。结果:回收率与线性范围分别为 ($n=5$): EGCG(99.6%, $RSD=0.27\%$, 5~25 μ g/ml); ECG(99.8%, $RSD=0.34\%$, 2~10 μ g/ml); GCG(99.2%, $RSD=0.36\%$, 1~5 μ g/ml); EGC(100.8%, $RSD=0.82\%$, 0.25~1.25 μ g/ml)。结论:本法简便, 适合心脑血管胶囊的含量测定。

关键词 高效液相色谱法; 心脑血管胶囊; 含量测定

Determination of Content of Xinnaojian Capsule by HPLC

Dai Qichang(Dai QC)(Zhejiang Huzhou Institute for Drug - control, Huzhou 313000)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish HPLC method for the determination of xinnaojian capsule. **METHODS:** Column, Nova - pack C₁₈(200 × 4.6nm, 4μm); mobile phase, methanal - 0.04mol/L phosphoric acid - acetonitrile(45:50:5); detector wave length, 254nm. external standard method. **RESULTS:** The recovery and linear range weve EGLC(99.6%, RSD = 0.27%, 5 ~ 25μg/ml), ECG(99.8%, RSD = 0.34%, 2 ~ 10μg/ml), GCG(99.2%, RSD = 0.36%, 1 ~ 5μg/ml), EGC(100.8%, RSD = 0.82%, 0.25 ~ 1.25%). **CONCLUSION:** The method is suitable for the determination of xinnaojian capsule.

KEY WORDS HPLC, xinnaojian capsule, determination

心脑血管胶囊由茶叶干浸膏制成,具有抗凝,促进纤维蛋白原溶解,防止血小板粘附,降低血浆纤维蛋白原的作用。用于心血管病伴高纤维蛋白原症及防止动脉硬化。其有效成份主要是儿茶素及其衍生物类,主要包括表没食子儿茶素-3-没食子酸酯(EGCG),表儿茶素-3-没食子酸酯(ECG),没食子儿茶素-3-没食子酸酯(GCG),表没食子儿茶素(EGC)。浙江省药品标准采用回流、分段萃取后分光光度法测定,操作繁琐费时,且重现性差。本文采用高效液相色谱法测定各组分含量,并测得儿茶素及其衍生物总量,方法简便,结果较满意,现报告如下。

1 仪器与试剂

Waters 616 泵, 486 检测器, 7725 进样器, 800 色谱工作站。

EGCG, ECG, GCG, EGC 及咖啡因(CAF)对照品,均由某公司提供。甲醇、乙腈(色谱用),磷酸(分析纯),心脑血管胶囊(可立思安,批号:951215,960108,960112,960125,960128)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: Nova - pack C₁₈(200 × 4.6nm, 4μm), 流动相: 甲醇 - 0.04 mol/L 磷酸 - 乙腈(45:50:5), 检测波长: 254nm, 流速: 1.0ml/min。

2.2 溶液配制:分别精密称取 EGCG, ECG, GCG, EGC 及 CAF 对照品适量,用流动相配成浓度分别为 EGCG: 500μg/ml, ECG: 200μg/ml, EGC: 25μg/ml, GCG 及 CAF 各为 100μg/ml 的标准储备液,备用。

2.3 线性关系:精密量取上述标准储备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0ml, 分别置 100ml 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀。精密量取 10μl, 注入色谱仪。以各组分峰面积(A)对浓度(c)进行线性回归,结果见表 1。

2.4 加样回收率试验:精密称取已知含量的供试品适量(约 50mg), 置 50ml 量瓶中,加流动相溶解并稀释至

表 1 峰面积与浓度的线性关系

组分名称	回归方程	r	浓度范围(μg/ml)
EGCG	$A = 1.176 \times 10^6 c + 2.047 \times 10^4$	0.9998	5 ~ 25
ECG	$A = 1.220 \times 10^6 c + 1.890 \times 10^4$	0.9998	2 ~ 10
GCG	$A = 1.262 \times 10^6 c + 1.847 \times 10^4$	0.9992	1 ~ 5
EGC	$A = 1.294 \times 10^6 c - 3.056 \times 10^4$	0.9981	0.25 ~ 1.25

刻度,分别精密量取上述溶液和标准储备液各 2ml, 置 100ml 量瓶,加流动相至刻度,摇匀。照样品测定项下操作,计算,得回收率分别为(n = 5): EGCG: 99.6% (RSD = 0.27%); ECG: 99.8% (RSD = 0.34%); GCG: 99.2% (RSD = 0.36%); EGC: 100.8% (RSD = 0.82%)。

2.5 样品测定:取样品 10 粒,精密称定,倾出内容物,精密称定空囊,精密称取内容物约 0.1g, 置 50ml 量瓶中,加流动相适量溶解并加至刻度摇匀。精密量取 2ml 置 100ml 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀。精密量取 10ul 注入色谱仪。另取上述标准储备液适量,加流动相稀释成 EGCG 约为 20μg/ml 的浓度,同法测定,按峰面积外标法计算各组分的量,并求得 EGCG, ECG, GCG, EGC 的总量,计算相当于标示量,同时与分光光度法比较,结果见表 2。

表 2 样品测定结果(标示量%, n = 5)

样品	HPLC	分光光度法
1	91.8	94.2
2	89.4	91.9
3	94.2	96.4
4	90.9	93.5
5	94.7	98.3

2.6 重现性试验:精密量取标准储备液 2ml, 置 50ml 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀。精密量取 10μl, 重复进样 6 次,测得峰面积,得 RSD 分别为: EGCG: 0.35%,

ECG:0.32%,GCG:0.61%,EGC:0.59%。

3 讨论

3.1 因茶叶中含有咖啡因,所以在对照液中加入咖啡因以确定与其他组分的分离情况,结果表明,本色谱条件下各组分分离良好。

3.2 心脑健胶囊的内容物为茶叶提取物,其主要成份为儿茶素及其衍生物,本法测定结果更能准确地反映

有效成份的实际含量。

参考文献

- 1 北京医学院主编.中草药成分化学.北京:人民卫生出版社,1982:485.
- 2 浙江省药品标准.1993:42.

收稿日期:1998-05-19