

高效液相色谱法测定尿感宁胶囊中秦皮乙素含量

李 兵¹, 张志勇²

(1. 贵州省贵阳市第一人民医院药剂科, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州省药品检验所, 贵州 贵阳 550004)

摘要: 目的 建立测定尿感宁胶囊中秦皮乙素含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸(15:85), 波长 350 nm, 流速 1 mL/min。结果 线性范围为 0.040 8~0.367 2 μg, 回归方程为 $Y = 3\,752\,573X - 5\,745.6$, $r = 0.999\,9$, 平均回收率为 99.68%, $RSD = 1.01\%$ ($n = 6$)。结论 该方法专属性强、精密度高、重现性好, 可作为尿感宁胶囊的质量控制。

关键词: 尿感宁胶囊 秦皮乙素 高效液相色谱法

中图分类号 R284.1 R286.0

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2009)12-0051-01

尿感宁胶囊由海金沙藤、紫花地丁、连钱草、凤尾草、萹蓄 5 味中药组方, 是尿感宁冲剂改剂型产品, 具有清热解毒、通淋利尿、抗菌消炎的作用, 用于治疗急性尿路感染^[1-2]。为了更好地控制产品质量, 笔者以紫花地丁中秦皮乙素为含量指标, 采用高效液相色谱(HPLC)法^[3]测定其含量, 报道如下。

1 仪器与试剂

高效液相色谱系统(包括 10AVP 型高效液相色谱仪, 10AVP 型紫外检测器)。秦皮乙素(中国药品生物制品检定所, 批号为 0273-9802) 乙腈为色谱纯 磷酸为分析纯 冰为重蒸水。

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 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸(15:75) 流速: 1 mL/min 柱温: 30 °C 检测波长: 530 nm。在此条件下, 色谱图见图 1。

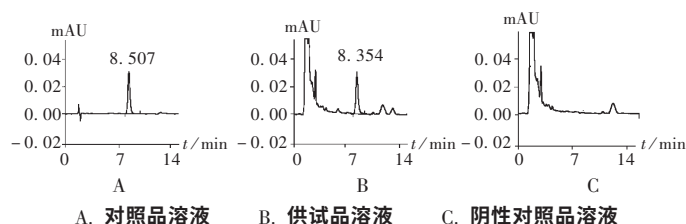


图 1 高效液相色谱图

2.2 溶液制备

精密称取秦皮乙素对照品 10.20 mg, 置 50 mL 的量瓶中, 加甲醇溶解定容, 再精密吸取 1 mL, 置 10 mL 的量瓶中, 加甲醇至刻度, 即得每 1 mL 含秦皮乙素 0.020 4 mg 的对照品溶液。取本品内容物研细, 取约 0.4 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 300 W, 频率 50 kHz) 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得供试品溶液。取不含紫花地丁的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

标准曲线绘制 精密吸取对照品溶液 2, 6, 10, 14, 18 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积 A 对进样量(μg)进行线性回归, 得线性回归方程 $A = 3\,752\,573.529\,4X - 5\,745.600\,0$, $r = 0.999\,9$ ($n = 5$)。结果表明秦皮乙素进样量在 0.040 8~0.367 2 μg 范围内与峰面积有良好的线性关系。

精密度试验 取秦皮乙素对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定峰面积。结果秦皮乙素的平均峰面积分别为 752 252.6, RSD 为 0.54% ($n = 5$), 表明仪器精密度高。

重复性试验 取同一批号的样品, 按上述方法制备 6 份供试品

溶液, 分别进样 10 μL, 测定峰面积, 计算含量。结果平均含量为 1.309 4 mg/g, $RSD = 0.72\%$ ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验 取重复性试验项下样品, 依法制备供试品溶液, 分别于 0, 3, 5, 11, 12 h 时进样测定。结果秦皮乙素平均峰面积分别为 786 508, RSD 为 0.55% ($n = 5$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

加样回收试验 取已知含量的样品 6 份(含量为 1.309 4 mg/g), 每份 0.2 g, 精密称定, 每 2 份为一平行样。另精密称取秦皮乙素对照品 12.75 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀得对照品溶液。分别将对品溶液 0.8, 1, 1.2 mL 精密加入上述平行样中, 挥干后, 依法制得供试品溶液。精密吸取 10 μL 进样, 记录色谱图, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 秦皮乙素加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.206 3	0.108 1	0.081 6	0.188 2	98.16	99.68	1.01
0.207 5	0.108 7	0.081 6	0.189 8	99.39		
0.201 4	0.105 5	0.102 0	0.206 7	99.22		
0.206 4	0.108 1	0.102 0	0.210 5	100.39		
0.203 2	0.106 4	0.122 4	0.230 1	101.06		
0.201 6	0.105 6	0.122 4	0.227 8	99.84		

2.4 样品含量测定

依法制备供试品溶液和对照品溶液, 分别进样, 测定峰面积, 计算含量。结果批号为 20070406, 20070511, 20070522 的 3 批样品中秦皮乙素平均含量分别为 0.48, 0.50, 0.55 mg/粒 ($n = 2$)。

3 讨论

通过在 200~700 nm 波长范围内扫描, 发现对照品溶液最大吸收波长为 350 nm, 且此时样品色谱中秦皮乙素峰分离完全, 分离度符合要求, 故选测定波长为 350 nm。也曾对尿感宁胶囊处方中连钱草的化学成分进行了相应的色谱分析, 但效果不好, 因此确定以处方中紫花地丁所含秦皮乙素为含量测定指标。该方法色谱行为好、专属性强、分离符合要求, 可作为尿感宁胶囊的含量测定方法。

参考文献:

- [1] 史晓霞. 尿感宁冲剂治疗小儿尿路感染 32 例[J]. 浙江中医杂志, 1998, 2(23): 232.
- [2] 陈 琦. 研究尿感宁的主要药理学研究疗效观察[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(3): 165.
- [3] 季 申. HPLC 测定秦皮中秦皮甲素、秦皮乙素的含量[J]. 中成药, 1997, 19(10): 40.

(收稿日期 2008-06-16 修回日期 2008-12-30)