

• 质量标准 •

高效液相色谱法测定前列泰胶囊中盐酸水苏碱的含量

宁康健^{1*}, 冯惠平², 何胜利²

(1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 天津药业集团新郑股份有限公司, 河南 新郑 451150)

[摘要] 目的: 应用高效液相色谱法测定前列泰胶囊(QLTJN)中盐酸水苏碱的含量。方法: 采用伊利特 Hypersil SCX C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5μm) 色谱柱, pH2.0 的 0.025mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺(100:0.25) 为流动相, 检测波长为 192nm。结果: 盐酸水苏碱在 2.796~ 6.524μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系($r = 0.99977$), 平均加样回收率为 98.61%, $RSD = 0.77%$ ($n = 5$)。结论: 该方法测定结果准确、灵敏、重复性好。

[关键词] 前列泰胶囊; 盐酸水苏碱; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)09-0009-03

Determination of Stachydrine in Qianlietai Capsule by HPLC

NING Kang-jian^{1*}, FENG Hui-ping², HE Sheng-li²

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China;

2. Tianjin Pharmaceutical Group Xinzheng Co., Ltd., Xinzheng, 451150, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of the content of Stachydrine in QLTJN. **Methods:** A Hypersil SCX C₁₈ column was used as the chromatographic column. The mobile phase consisted of Potassium phosphate monobasic(0.025 mol/L, pH2.0)-Triethylamine(100:0.25), the flow rate was 1.0 mL/min. The UV detection wavelength was 192nm. **Results:** There was a good linear relationship between the concentration of Stachydrine and peak area value when the concentrations of Stachydrine was within the range of 2.8~ 6.5 μg ($r = 0.9998$). The average recovery was 98.6%, $RSD = 0.77%$ ($n = 5$). **Conclusion:** The method was accurate, sensitive, reproducible and may be used in the determination of Stachydrine in QLTJN.

[Key words] QLTJN; Stachydrine; HPLC; Determination

前列泰胶囊是由益母草、篇蓄、红花、油菜蜂花粉、知母(盐炒)、黄柏(盐炒)六味药组成^[1], 具有清热燥湿, 活血化瘀, 清浊消淋之功效, 临床上对湿热蕴结、瘀血阻络所致的慢性前列腺炎有较好的疗效。为有效控制产品质量, 本研究采用高效液相色谱法对处方中君药益母草所含的有效成分盐酸水苏碱进行了含量测定。

1 仪器与试剂

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10AVP 紫外可见检测器; TL9900 色谱数据工作站。盐酸水苏碱对照品(批号 110712-200306, 中国药品生物制品检定所); 三乙胺(分析纯, 北京化工厂); 磷酸二氢钾(分析纯, 北京亚太龙兴化工有限公司); 硫氰酸铬铵(分析纯, 广州钱盛化工有限公司); 无水乙醇、盐酸、丙酮(均为分析纯, 开封开化(集团)有限公司试剂厂); 硫酸银(分析纯, 广州市长华化工有限公司); 氯化钡(分析纯, 汕头达濠精细化工厂)。

2 方法与结果

[收稿日期] 2006-01-26

[基金项目] 安徽教育厅自然科学基金项目(No. 2005-kj160)

[通讯作者] * 宁康健, Tel: (0550) 6733113; E-mail: nkj2101@sohu.com

2.1 色谱条件及系统适用性 伊利特 Hypersil SCX C₁₈ 色谱柱, 4.6mm × 250mm; pH 2.0 的 0.025 mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺(100:0.25) 为流动相; 流速为 1.0ml/min; 柱温: 30℃; 检测波长为 192nm; 进样量为 20μL。盐酸水苏碱理论板数应不低于 2000, 与杂质峰分离度应大于 1.5。

2.2 检测波长的选择 取盐酸水苏碱对照品适量, 精密称定, 配制成浓度为 0.2mg/mL 的对照品溶液, 按紫外分光光度法^[2] 在 200~400nm 下进行扫描, 结果盐酸水苏碱于 190nm 附近有末端吸收, 参照益母草药材中盐酸水苏碱的高效液相色谱测定法^[3] 中所用波长, 将波长定为 192nm。

2.3 对照品溶液的制备 精密称定盐酸水苏碱(105℃干燥至恒重) 适量, 加水制成每 1mL 含盐酸水苏碱对照品 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的配制 取前列泰胶囊倾出内容物约 1g, 精密称定, 置 100mL 平底烧瓶中, 加入无水乙醇 50mL, 加热回流提取 3 h, 滤过, 以无水乙醇洗涤滤渣 3 次, 每次约 15mL, 合并洗液和滤液, 于水浴上蒸干, 残渣加 20mL 盐酸溶液(0.1mol/L) 溶解, 加入新鲜配制的 2% 硫氰酸铬铵溶液 5mL, 置冰浴中放置 1.5h, 滤过, 容器和沉淀用约 10mL 冰水分次洗涤, 弃去滤液, 以丙酮 20mL 溶解沉淀, 在丙酮溶液中滴加 0.5% 硫酸银溶液至不再有沉淀产生, 放置, 滤过。用 70% 乙醇 20mL 分次洗涤沉淀, 合并洗液和滤液, 置水浴上浓缩至约 1mL, 放冷, 加入与硫酸银等当量的 1% 氯化钡溶液, 再移至 10mL 容量瓶中并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 作为供试品溶液。

2.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液(0.466mg/mL) 6、8、10、12、14μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积值为纵坐标, 盐酸水苏碱量为横坐标绘制标准曲线, 结果表明盐酸水苏碱量在 2.796~6.524μg 范围内呈良好的线性关系。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10μL, 按上述色谱条件, 分别于 0.2、4、6、8h 进样, 根据样品溶液的峰面积考察溶液的稳定性, 计算相对标准偏差, 结果表明, 供试品溶液在 8h 内稳定, RSD 为 1.02%。

2.7 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10μL, 重复进样 6 次, 根据盐酸水苏碱的峰面积, 计算相对标准偏差, 结果表明仪器的精密度良好, RSD 为 0.94%。

2.8 重复性试验 精密称取样品 5 份, 按照上述供试品溶液制备方法制成供试品溶液, 测定盐酸水苏碱的

含量, 结果表明该方法重复性好, RSD 为 0.26%。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的前列泰胶囊 5 份, 分别添加盐酸水苏碱对照品适量, 制成供试品溶液, 测定回收率, 结果表明本法具有良好的回收率, 见表 1。

表 1 盐酸水苏碱回收率测定结果

实验次数	称样量 (g)	样品含量 (mg)	添加量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.6142	3.0037	2.013	4.9599	97.18		
2	0.5749	2.8114	2.013	4.7915	98.36		
3	0.6461	3.1599	2.013	5.1443	98.58	98.61	0.77
4	0.5602	2.7394	2.013	4.7660	100.68		
5	0.6460	3.1590	2.013	5.1372	98.27		

2.10 样品的测定 分别精密吸取已制备的对照品溶液与供试品溶液各 10μL, 按上述色谱条件测定, 计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	盐酸水苏碱含量(mg/粒)
040301	2.04
040302	2.00
040303	2.14

由上述实验结果, 暂定本品每粒含盐酸水苏碱不得低于 1.70mg。

2.11 阴性溶液的制备 按处方比例称取除益母草以外的其余药材, 按制备工艺制成缺益母草的阴性样品, 按上述供试品制备方法制成缺益母草的阴性样品溶液。吸取阴性样品溶液 10μL 进样, 观察在样品峰的保留时间处是否有杂质峰。结果表明在样品保留时间处无明显杂质峰干扰。

3 讨论

在色谱条件选择的研究中曾以伊利特 Hypersil SCX C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5μm) 为色谱柱, pH 3.0 的 0.025 mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺(100:0.1) 为流动相, 检测波长为 192nm, 结果此条件下的盐酸水苏碱主成分保留时间约在 16.5min, 主峰拖尾, 峰形不好, 其它 pH 条件下及流动相离子浓度对色谱分离的影响值得进一步的探讨。

在供试品溶液的制备中对提取溶剂、提取时间和冰浴时间进行了研究。提取溶剂分别为无水乙醇、乙酸乙酯和水, 结果以无水乙醇提取效果最佳; 提取时间分别为 2、3、4h, 结果提取 3h 与提取 4h 相当, 且明显高于提取 2h, 故确定提取时间为 3h; 冰浴时间分别为 1、1.5、2h, 结果以 1.5h 效果最佳, 故确定冰浴时间为 1.5h。

应用高效液相色谱法测定前列泰胶囊(QLTJN)中盐酸水苏碱的含量。具有方法快速简便、稳定可靠的优点。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 新药转正标准

[S]. 第34册, 北京: 卫生部药典委员会编, 1998. 7.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 附录38.

[3] 姜舜尧. 益母草药材中水苏碱成分的高效液相色谱法分析[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(4): 243-247.