

高效液相色谱法测定寒痹停片中土的宁含量

郭淑丽 孙茂峰¹ 牛家萍¹ (开封 475001 开封医学高等专科学校一附院;¹ 开封 475001 开封医学高等专科学校)

摘要 目的:建立用 HPLC 测定寒痹停片中土的宁含量的方法。方法:氰基柱;流动相:甲醇-水-三乙胺-乙酸(9800:155:15:30);紫外检测波长 254nm。结果:在 4~20 μ g/ml 范围内,标准曲线回归方程为: $Y = -2803 + 8967x$ ($r = 0.9997$), $RSD = 1.65\%$, 加样回收率的平均值为 99.82%。结论:实验表明,这是一个适用于生产控制和产品质量检验的简单、快速、准确的方法。

关键词 HPLC;土的宁;寒痹停片

Determination of strychnine contained in Hanbiting tablet by HPLC

Guo Shuli (Guo SL), Sun Maofeng (Sun MF), Niu Jiaping (Niu JP) (The First Affiliated Hospital of Kaifeng Medical College, Kaifeng 475001)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To develop a HPLC method for the determination of strychnine in Hanbiting tablet. **METHOD:** The analysis was carried out using spherisorb-cyano column ($\phi 5\mu\text{m}$, $4.6 \times 150\text{mm}$). The mobile phase consists of methanol-water-acetic acid-triethylamine (9800:155:15:30, v/v). The wavelength of detection was at 254nm. **RESULTS:** The linear range was 4~20 μ g/ml of strychnine. The regression equation was $y = -2803 + 8967x$ ($r = 0.9997$). The average recovery of strychnine was 99.82%. The precision of determination was $RSD = 1.65\%$. **CONCLUSION:** The method is suitable for the product control and quality analysis.

KEY WORDS strychnine, HPLC, Hanbiting tablet

寒痹停片用于治疗风湿和类风湿性关节炎。主要成分由马钱子等 7 味中药组成。其中,马钱子中含有

剧毒生物碱土的宁,故对本药中土的宁的定量是控制其质量的重要环节。对马钱子及其制剂中土的宁的测定,国外曾用 ODS 柱离子对色谱法测定了酞剂中的含量,国内亦有用硅胶柱吸附色谱法测定了九分散中的含量,对寒痹停片中土的宁的测定尚未见报道。我们使用了 Spherisorb-CN 柱,甲醇-水-三乙胺-乙酸(9800:155:15:30)的流动相,成功地将样品中的土的宁与其它复杂组份分离,使用外标法定量。RSD=1.65%。回收率的平均值为 99.82%。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和药品

美国 Beckman 公司 334M 型高效液相色谱仪(421 控制器,114 型泵,165 紫外可见检测器,427 积分仪), Spherisorb-CN 柱($\phi 5\mu\text{m}$, $4.6 \times 150\text{mm}$),大连化物所国家色谱中心填装,加同种予柱,在此条件下理论塔板数 $n = 9000$ 。CQF-I-6 型超声波清洗器(300 W, 25 KHZ, 上海船舶电子设备研究所)。

甲醇、三乙胺、乙酸(分析试剂),水为重蒸馏。甲醇和水经 $0.5\mu\text{m}$ 滤膜过滤,土的宁对照品(中国药品生物制品检定所)。寒痹停片(河南中医学院制药厂,批号:9611224)。

1.2 标准曲线绘制

用土的宁对照品配制成 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的甲醇溶液做储备液。精密吸取储备液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 和 1.0 ml 于 5 只 10 ml 量瓶中,甲醇定容,每个浓度进样 3 次,取峰面积均值,以 x 代表土的宁浓度, y 代表峰面积得回归方程为: $y = -2803 + 8967x$ ($r = 0.9997$)。

1.3 样品测定及测定精密度

取样品 10 片,称定为 4.7810g,得平均片重 0.478g/片。放入研钵中研细,每份 0.19g 左右,取 5 份(剩余样品用于回收率测定)精密称定,放入 5 只 25 ml 量瓶中,加入甲醇-氨试液(20 ml 甲醇 3 ml 氨水)20 ml,超声处理 50 min,加入乙酸 3 ml,甲醇定容,过滤,取续滤液通过 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜后进样,所得色谱图见图 1,阴性色谱图见图 2。由每份进样 3 次所得峰面积的平均值代入回归方程,求样品中土的宁含量,所得数值见表 1。

1.4 回收率测定

取样品测定后剩余的样品 5 分,每份 0.1g 左右,精密称定,分别于 5 只 25 ml 量瓶中,各加 $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 之标准储备液 1.00 ml,加入甲醇-氨试液 20 ml ... 以下操作与样品测定相同,利用上节样品平均含量值求回收量,所计算回收率见表 2。

2 讨论

2.1 提取样品中的土的宁所用溶剂为甲醇-氨(20:3,

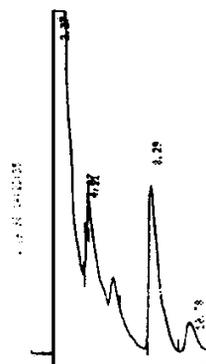


图 1 样品色谱图

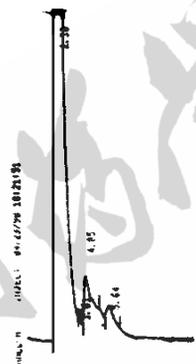


图 2 不含马钱子的阴性样品色谱

表 1 寒痹停中土的宁含量及测定精密度

序号	含量		含量均值/%	RSD/%
	%	mg/片		
1	0.186	0.89	0.185	1.65
2	0.189	0.90		
3	0.183	0.87		
4	0.181	0.86		
5	0.184	0.88		

表 2 回收率测定

序号	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%
1	200	200.08	100.04	99.82
2	200	200.01	100.00	
3	200	199.47	99.74	
4	200	199.38	99.69	
5	200	199.25	99.63	

v/v),氨水的比例不能减少,否则不能定量提取。为促进样品中土的宁溶出,超声处理时间不能少于 50 min (300 W, 25 KHZ),否则也不能定量溶出。

2.2 随流动相中胺的比例减少,土的宁和马钱子碱的保留时间延长;而其它组分保留时间的变化不太大,故可借流动相中胺的比例变化而将土的宁分离。

收稿日期:1998-10-19