

薄层扫描法测定骨筋丸胶囊中土的宁的含量

翟遵兰,田永庆(沧州市药品检验所,河北 沧州 061001)

摘要:目的 制定骨筋丸胶囊中土的宁含量控制标准。方法 采用薄层扫描法测定骨筋丸胶囊中毒剧药马钱子中的土的宁的含量,以乙醚-甲醇(4:1),甲苯-丙酮-乙醇-浓氨水(16:12:1:4)为展开剂,分两次展开,双波长反射法锯齿扫描, $\lambda_s = 254\text{nm}$ $\lambda_R = 325\text{nm}$ 。结果 通过方法学考察,点样量在 $1.25 \sim 4.16\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系,平均回收率为 99.0% ($n = 6$, $RSD = 1.2\%$)。结论 方法可靠,数据准确,操作简便易行。

关键词:薄层扫描法;土的宁;含量测定

中图分类号:R917.01;R927.2

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2003)06-0499-03

Determination of strychnine in gujinwan capsules by TLC-Scanning

ZHAI Zui-lan, TIAN Yong-qing (Cangzhou Institute for Drug Control, Hebei, Cangzhou 061001, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish the quality control standard for strychnine content in gujinwan capsules. **METHOD** The TLC-Scanning was applied. The thin lay carried sample was detected by dual wavelengths reflection sawtooth scanning at $\lambda_s = 254\text{nm}$ and $\lambda_R = 325\text{nm}$ after being developed by two solvent systems of ether-methanol(4:1) and toluene-ethanol-concentrated ammonia solution(16:12:1:4) successively. **RESULTS** The methodological study showed that a good linear correlation existed in the range of $1.25 \sim 4.16\mu\text{g}$ of the sample applied and with a recovery of 99.0% ($n = 6$, $RSD = 1.2\%$). **CONCLUSION** The method is reliable, accurate, simple and easy to operated.

KEY WORDS: TLC-Scanning; strychnine; content determination

骨筋丸胶囊是由马钱子、白芍、秦艽、独活、延胡索、红花、血竭等十几味中药组成的复方制剂,具有活血化瘀、疏风止痛的功效。其主要成分马钱子为毒剧药,故以马钱子为测定指标。马钱子中的主要成分为土的宁,药理作用清楚,所以本实验采用双波长扫描法对其进行定量分析。

1 仪器与试剂

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津公司);硅胶 GF254(青岛海洋化工厂);土的宁对照品(中国药品生物制品检定所);骨筋丸胶囊(河北万岁药业有限公司);其他试剂均为分析纯。

2 实验条件

2.1 薄层色谱

由于土的宁在以 0.5%CMC-Na 为黏合剂的硅胶 GF254 薄层板上显示荧光斑点,不用显色定位,故选用此板。如果只用甲苯-丙酮-乙醇-浓氨试液做一次展开,虽然斑点可以达到较好分离效果,但是有空白干扰,经乙醚-甲醇做第一次展开后,再用甲苯-丙酮-乙醇-浓氨试液做第二次展开,斑点分离良好,且无空白干扰,故选用二次展开法。

2.2 薄层扫描条件

2.2.1 测定波长的选择 将土的宁对照品制成 $20\mu\text{g/mL}$ 的氯仿溶液进行紫外扫描测定,结果土的宁于 254nm 有最大吸收,于 320nm 波长以上无吸收,将对照品土的宁溶液、样品溶液、马钱子阴性对照液点于薄层板上展开后对相应土的宁处的斑点进行薄层扫描,对照品及样品于 254nm 有最大吸收,阴性液无吸收,故以 254nm 为测定波长, 325nm 为参比波长。

2.2.2 扫描条件 双波长发射法线性扫描,狭缝宽度 0.1nm ,线性参数为 $S_x = 7$, $\lambda_s = 254\text{nm}$, $\lambda_R = 325\text{nm}$ 。

3 试液的制备

3.1 对照品溶液的制备

精密称取土的宁对照品适量制成 0.832mg/mL 的氯仿溶液备用。

3.2 供试品溶液的制备

取本品内容物适量,研匀,精密称取 5g ,加浓氨水试液 10mL 润湿,精密加入氯仿 50mL ,密塞,称重,轻轻摇匀,冷浸 24h 后,称重,补足减失的重量,滤过。精密量取续滤液 5mL ,置分液漏斗中,用硫酸溶液(2→100)分 4 次振摇提取,每次 20mL ,分取硫酸液,用浓氨水调 $\text{pH}8 \sim 9$,以氯仿提取 5 次,每次 20mL ,合并氯仿液,浓缩至干,残渣放冷后,精密加氯仿 10mL 使溶解,作为供试品溶液。

4 含量测定

4.1 线性关系

精密量取对照品溶液 $1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0\text{mL}$,置置 10mL 量瓶中,用氯仿稀释至刻度,摇匀,吸取上述溶液各 $10\mu\text{L}$,交叉点于同一硅胶 GF254 薄板上,依法展开,扫描测定,以浓度为横坐标,面积积分值为纵坐标作图。回归方程为: $Y = 254651.67x - 11864.02$, $r = 0.9986$ 。土的宁点样量在 $0.832\mu\text{g} \sim 4.160\mu\text{g}$ 内,呈现良好的线性关系。

4.2 稳定性试验

4.2.1 样品溶液的稳定性试验 取同一样品溶液及对照品溶液,交叉点于同一薄层板上,于 $0, 1, 2, 3, 4, 6, 8\text{h}$ 各分别点样,照上述方法分别展开后,进行扫描测定,结果测得同一样品溶液在上述时间内含量基本相同。($RSD = 1.5\%$, $n = 3$) 证明样品溶液在 8h 内基本稳定。

4.2.2 斑点稳定性 取同一薄层板(按上述方法点样展开)进行薄层扫描测定,分别间隔 $2, 4, 8, 12, 24, 48\text{h}$ 进行,结果本方法在 48h 内基本稳定($RSD = 1.6\%$, $n = 6$)。另取一薄层板(按上述方法点样展开)进行薄层扫描测定,与另一板时间相同,比较两板同一时间内面积变化情况,结果两板基本相同($RSD = 1.5\%$, $n = 6$)。

4.3 精密度试验

同一薄层板上的各个斑点连续扫描 6 次,结果同一斑点峰面积积分值的 $RSD = 1.14\%$ ($n = 6$)。

4.4 重现性试验

对同一批号的样品,按上述方法重复实验六次,结果土的宁的平均含量为 0.7827mg/g , $RSD = 0.6\%$ ($n = 6$)。

4.5 回收率实验

精密称取已知含量的同一批号样品 2.5g(含量为0.745 mg/g)精密加对照溶液一定量,按上述方法测定含量,计算回收率,结果见表1。

表1 回收率测定结果($n = 5$)

Tab 1 The result of recovery test($n = 5$)

编号	样品加入量 (g)	样品中土的 宁含量(mg)	对照品加入 量(mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)
1	2.4362	1.9538	1.664	3.5978	98.80
2	2.4977	1.9549	1.664	3.6031	99.05
3	2.5002	1.9569	1.664	3.6425	101.3
4	2.5014	1.9578	1.664	3.5915	98.18
5	2.4948	1.9568	1.664	3.5985	98.65
6	2.4966	1.9541	1.664	3.5835	97.92

平均回收率 = 98.98% $RSD = 1.2\%$

平均回收率在 97.92%以上,证明回收率符合要求。

4.6 样品测定

精密称取不同批号的供试品内容物 5 批,按上述方法测定,结果含量分别为 0.8131, 0.7808, 0.7709, 0.7742, 0.7562 mg/g。

4.7 阴性溶液的干扰考察

将处方中各成分除不加马钱子外,制成制剂,按上述样品的薄层扫描法进行测定,在土的宁相应的位置上,阴性对照无干扰。

5 讨论

本品中马钱子所含土的宁属于吲哚类生物碱,脂溶性较强,易溶于稀酸、氯仿及甲醇中,本法选用氨水碱化氯仿提取生物碱的方法,经实验回收率为 97%以上,转移率为 100.5%,因为样品成分复杂,用 HPLC 虽然可取得较为准确的结果,但是杂质峰干扰多,操作较为复杂,对色谱柱的要求也较高。用薄层扫描法,分两次展开后,欲测定成分不受杂质干扰,精密度、线性关系、稳定性、重现性及回收率均能达到要求,且试剂消耗少,操作简单,故此法方便可行。