

高效液相色谱法测定肤得乐凝胶剂中次乌头碱的含量

温爱平¹,王春梅² (1.内蒙古医学院药学院,内蒙古 呼和浩特 010059; 2.内蒙古呼和浩特市第一医院,内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:目的 建立肤得乐凝胶剂中次乌头碱的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法测定次乌头碱的含量,色谱柱为 ODS 柱;流动相为甲醇-0.1%三乙胺(80:20);检测波长 230nm。结果 次乌头碱在 0.224 ~ 1.12μg 范围内呈良好的线性关系,加样平均回收率为 98.34%,RSD 为 2.30%。结论 本法简单、快速、结果准确,可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 高效液相色谱法; 肤得乐凝胶剂; 次乌头碱

中图分类号: R917.780.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)05-0405-02

Determination of hyaconitine in Fudele Gel by HPLC

WEN Ai-ping¹, WANG Chun-mei² (1. Department of Pharmacy, Inner Mongolia Medical College, Huhhot 010059; 2. The First Hospital of Inner Mongolia Huhehaote City, Huhhot 010010)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for assay of hyaconitine in Fudele Gel. **METHODS** HPLC was carried out on ODS column with methanol-0.1% triethylamine (80:20) as mobile phase, the detection wavelength was 230 nm. **RESULTS** The linear range of hyaconitine was 0.224 ~ 1.12μg, the average recovery was 98.34%, RSD was 2.30%. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, accurate and available for quality control of the preparation.

KEY WORDS: HPLC; Fudele Gel; hyaconitine

肤得乐凝胶剂是由草乌、川芎等药材组成的新型蒙药制剂,主治糖尿病引起的末梢神经炎。草乌为有毒药材,其主要有效成分为酯型生物碱——乌头碱、次乌头碱和新乌头碱,本实验以草乌中的有效成分之一次乌头碱作为定量指标,采用高效液相色谱法测定其含量,结果较为满意。

1 仪器及药品

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),配有四元泵,在线脱气机,柱温箱, DAD 紫外检测器,自动进样器, HP 化学工作站; JL 型超声波清器(上海杰理科技有限公司);次乌头碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0798-9403);肤得乐凝胶剂(复旦蒙药研发中心);甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: ZORAX Eclipse XDB-C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5μm),流动相: 甲醇-0.1%三乙胺(80:20),检测波长 230nm,柱温 30℃。在此色谱条件下,次乌头碱可以得到满意的分离,与相邻峰的分离度大于 1.5,理论塔板数按次乌头碱峰计在 5000 以上,同时取阴性供试品溶液进样,结果表明:在次乌头碱色谱峰位置处无相应峰出现。

2.2 供试品溶液及阴性样品溶液的制备

取本品 3g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 20mL,超声处理 30min,放冷,滤过,滤器及容器用甲醇洗涤两次,每次 5mL,滤过,合并洗液与滤液,低温蒸干。残渣加 0.1mol/L 硫酸 5mL 溶解后,转移至分液漏斗中,用 0.1mol/L 硫酸 5mL 分次洗涤容器,洗液并入分液漏斗中,用乙醚提取 4 次(20,

15,15,10),弃去乙醚,酸水层加氨水调节 pH 9~10,再用氯仿提取 4 次(20,15,15,10),分取氯仿液,依次用同一滤纸滤过,最后用氯仿 5mL 分次洗涤滤纸,并滤过,合并洗液与滤液,低温蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 10mL,摇匀,微孔滤膜(0.45μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

阴性溶液的制备:按处方比例及制备工艺,制备缺草乌的阴性样品,同法制备。

2.3 对照品溶液的制备及线性范围的考察

精密称取次乌头碱对照品适量,加甲醇制成每 1mL 中含 0.112mg 的溶液,作为对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 2,4,6,8,10μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积,以峰面积值(A)作纵坐标,进样量(C)作横坐标,绘制标准曲线,并进行线性回归,得回归方程为: $A = 1215.22C - 0.273$, $r = 0.99997$ 。

结果表明:在 0.224 ~ 1.12μg 内,次乌头碱的峰面积与进样量有良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取样品(批号 011111),按供试品溶液制备方法制得供试品溶液,连续进样 5 次,记录峰面积,结果峰面积为 410.14, RSD = 0.94%。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液(批号 011111),每隔 2h 进样一次,测定其峰面积,结果在 8h 内峰面积无明显变化,峰面积为 444.0, RSD = 1.05%。

2.6 重复性试验

按拟定的含量测定方法,对同一批样品(批号 011111)

制备五份供试品溶液,分别进样,测定峰面积并计算含量,结果每克凝胶剂中含次乌头碱 0.119mg, RSD为 1.74%。

2.7 回收率试验

取已知含量的样品(批号 011111)1.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别加入次乌头碱对照品溶液(0.18mg/mL)各1mL,按供试品溶液制备方法操作,制备加样回收供试品溶液。按样品测定方法测定,计算回收率,结果见表1。

表 1 回收率试验结果 (n=2)

Tab 1 Results of recovery test							
编号	样品重 (g)	次乌头碱含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.5003	0.179	0.18	0.359	100.0		
2	1.4912	0.177	0.18	0.350	96.11		
3	1.5901	0.189	0.18	0.367	98.89	98.34	2.30
4	1.6649	0.198	0.18	0.381	101.7		
5	1.5324	0.182	0.18	0.357	97.22		
6	1.5610	0.186	0.18	0.359	96.11		

2.8 样品的测定

分别精密吸取对照品溶液(30μg/mL)和供试品溶液各10μL,按上述色谱条件测定,按外标法计算含量,结果见表2。

3 讨论

3.1 在本试验条件下,能够将草乌中的乌头碱,次乌头碱和新乌头碱达到完全分离,但制剂中组分复杂,干扰乌头碱和新乌头碱色谱峰,故本研究只对乌头碱进行含量测定。

表 2 样品含量测定结果 (n=3)

Tab 2 Determination results of samples(n=3)		
批号	次乌头碱含量 (mg/g)	RSD(%)
011101	0.165	1.75
011111	0.120	2.20
011118	0.109	0.75
011128	0.118	2.98
020401	0.154	2.25

3.2 在供试品溶液制备时,曾对提取方法,提取溶剂和提取时间进行了考察。提取方法首先采取凝胶剂,加0.1mol/L硫酸10mL,摇匀,用乙醚提取4次,弃去乙醚,水层加氨水调节pH 9~10,用氯仿提取4次,合并提取液,低温蒸干,残渣加甲醇溶解,滤过,结果提取过程中,因水层浑浊,分层非常困难(约需1天)。后又参照文献(王晶等. 甲硝唑凝胶剂的含量测定. 山东医药工业,2000,19(1):14),采用盐析法,结果也失败。总结上述提取方法,采用了甲醇超声处理后,使部分基质变性而成细粉,滤过,蒸干,残渣再用上述方法进行提取,获得了满意的结果。提取溶剂曾试验分别用甲醇和无水乙醇作溶剂,超声处理后,无水乙醇没有甲醇处理后基质变性效果好,即滤过较慢,故最后确定采用甲醇作提取溶剂。提取时间考察了加甲醇后,分别超声处理10,20,30,40min,结果表明:超声处理30min,含量较高,故确定超声处理时间为30min。