

HPLC测定龙马定痛胶囊中土的宁的含量

袁波,李玲(上海市第十人民医院药剂科,上海 200072)

摘要:目的 建立 HPLC法测定龙马定痛胶囊中土的宁含量的方法。方法 色谱柱填料是硅胶,流动相为正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨试液(52.1-42.5-5.0-0.4),柱温为 20 ℃,检测波长为 254 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果 土的宁在 0.4~4.4 μg 内呈良好的线性关系,相关系数为 0.999 8(*n*=6);土的宁平均加样回收率为 98.27%。结论 HPLC法灵敏、方便,结果准确,适用于龙马定痛胶囊中土的宁的含量测定。

关键词:龙马定痛胶囊;马钱子 土的宁;高效液相色谱法

中图分类号:R917.101;R927.2;R943.3

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2008)07-0651-02

Determination of Strychnine in Longma Analgetic Capsule by HPLC

YUAN Bo, LI Ling(Pharmacy Department of Shanghai Tenth People's Hospital Shanghai 200072)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of strychnine in Longma Analgetic Capsule by HPLC.

METHODS A Hypersil ODS phase column (4.0*125mm, 5μm) was used and the mobile phase was n-hexane-dichloromethane-methanol-ammonia water(52.1-42.5-5.0-0.4); The column temperature was 20 ℃; The detection wavelength was 254 nm and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** A good linearity was found over the concentration range of 0.4-4.4 μg(Strychnine). The correlation coefficient was 0.999 8. The mean recovery was 98.27%. **CONCLUSION** The HPLC method is sensitive, simple accurate, and reliable for determining the contents of Strychnine in Longma Analgetic Capsule.

KEY WORDS: Longma Analgetic Capsule, Semen Strychni, Strychnine, HPLC

龙马定痛胶囊是由马钱子(制)等多味中药制成的胶囊,具有活血脉、化淤血、祛风湿、止痛等功能。龙马定痛胶囊为我院自制制剂,原标准中无含量测定项。该方中马钱子(制)为君药,又是剧毒药,因此,为了保证用药安全及进一步控制该药的质量,本实验采用高效液相色谱法,对龙马定痛胶囊进行含量测定。本法操作简便,测定准确,重复性好,可作为控制该制剂内在质量的依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂

Agilent1100 HPLC高效液相色谱仪,Agilent1313A自动进样器,Hypersil ODS柱(4.0×125 mm,5 μm),上海波龙电子设备有限公司 USC-502超声波清洗器,上海医科大学仪器厂 XW-80A旋涡混合器,上海医疗器械五厂 电热恒温水浴锅。对照品土的宁由中国药品生物制品检定所提供,龙马定痛胶囊由本院制剂室提供。正己烷-二氯甲烷-甲醇为色谱纯,浓硫酸、氯仿、浓氨水、醋酸乙酯为分析纯,水为重蒸水。

1.2 色谱条件

Hypersil ODS柱(4.0×125 mm,5 μm),流动相为正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨试液(52.1-42.5-5.0-0.4),流速 1.0 mL·min⁻¹;柱温 20 ℃;检测波长 254 nm^[1]。土的宁分离度大于 1.5,定量方法为外标法,理论塔板数按土的宁峰计算不

低于 2 500。

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取土的宁对照品适量,加醋酸乙酯制成每 1 mL 含 0.4 mg 的溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备

取本品 3 粒,倾出内容物,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加氯仿 25 mL 与浓氨试液 1 mL,密塞,轻轻振摇,称定重量,超声波振荡提取(200 W,40 kHz)2 h,再称定重量,用氯仿补足减失的重量,充分振摇,精密量取滤液 10 mL,置分液漏斗中,用硫酸溶液(3~100 mL)提取 5 次,每次 15 mL,合并硫酸液,加浓氨试液调节 pH 值 9~10,用氯仿提取 5 次,每次 20 mL,合并氯仿液,蒸干,残渣加醋酸乙酯溶解,转移至 10 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得^[2-3]。

2.3 测定法

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 4 μL,注入高效液相色谱仪,测定,即得。

3 结果

3.1 空白试验取供试品溶液和对照品溶液分别注入高效液相色谱仪,再取去除马钱子后的空白供试品,按照同法制备成空白供试品溶液,进行测定,结果无干扰,见图 1。

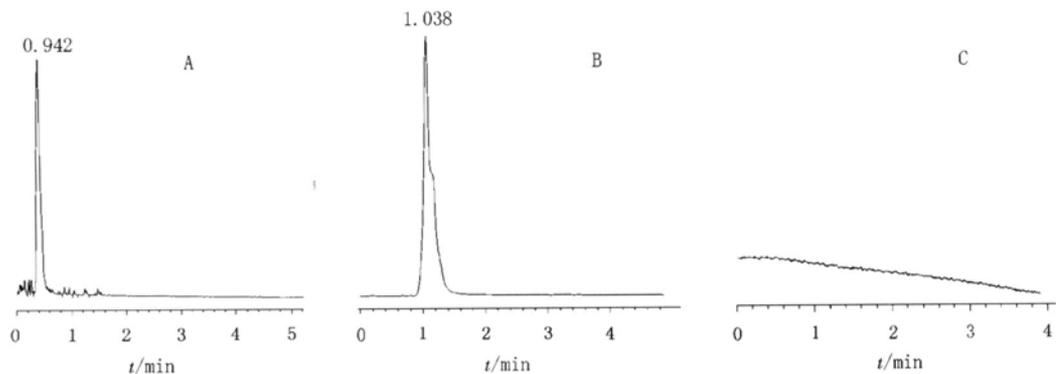


图 1 高效液相色谱图

A - 供试品溶液; B - 对照品溶液; C - 空白溶液

Fig 1 HPLC chromatograms

A - Sample; B - Reference Substance; C - Negative Sample

3.2 标准曲线绘制

精密称取士的宁对照品,加醋酸乙酯制成每 1 mL 含 0.4 mg 的混合溶液。分别精密吸取 1、3、5、7、9、11 μ L 注入液相色谱仪,测定,以对照品进样量 (μ g) 为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线图,士的宁回归方程为 $y = 1487.08x + 15.75$, $r = 0.9998$ 。

3.3 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 4 μ L,注入液相色谱仪,重复进样 6 次,结果 $RSD = 0.29\%$ 。

3.4 重复性试验

取批号为 04020101 的胶囊剂,按同法制得 5 份供试品溶液,分别测定其中士的宁的含量,为 0.32%、0.28%、0.32%、0.27%、0.25%、0.30%,平均含量为 0.29%, $RSD = 2.19\%$ 。

3.5 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液,按照色谱条件,分别在 0.1、2、4.8 h 注入液相色谱仪测定,平均为 0.30%, $RSD = 1.27\%$ 。

3.6 回收率试验

采用加样回收法,取空白供试品 9 份,分别精密加入士的宁对照品 2、2.5、3 mL,依法测定回收率,结果见表 1。

3.7 含量测定 取三个批号的龙马定痛胶囊,按“供试品溶液的制备”项下操作,结果见表 2。

表 1 龙马定痛胶囊的加样回收率实验结果

Tab 1 Results of recovery test

序号	士的宁 加入量 /mg	士的宁 测得量 /mg	平均值 /mg	平均回收率 /%
1	0.8	0.7465	0.7572	94.65
		0.7620		
		0.7631		
2	1	0.9328	0.9461	94.61
		0.9454		
		0.9602		
3	1.2	1.1749	1.1845	98.71
		1.1883		
		1.1864		

表 2 龙马定痛胶囊中士的宁的含量 ($g \cdot g^{-1}$)

Tab 2 The sample of content determine

批号	A /%	\bar{A} /%	RSD /%
20060604	0.3112	0.3071	2.13
	0.2996		
	0.3106		
20060823	0.2935	0.3011	3.75
	0.3141		
	0.2958		
20061112	0.3022	0.3101	2.32
	0.3163		
	0.3117		

4 讨论

采用 HPLC 法进行士的宁的定性鉴定及含量测定,结果表明该方法操作简便,测定准确,重复性好,可作为控制该制剂内在质量的依据。本法采用超声波振荡提取士的宁,可以缩短提取时间,提高本法操作效率,尤其适合质量控制。在提取后充分振摇过程中,为避免人为因素的干扰,利用旋涡混合器进行充分振摇,使士的宁的溶出更加充分。在萃取过程中,氯仿和水溶液易出现乳化现象,可以进行充分静置,并不断振摇去除泡沫,彻底分层后,再进行萃取。

参考文献

- [1] The State Pharmacopoeia Committee. The People's Republic of China Pharmacopoeia Vol 1 [S]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 37.
- [2] JIANG Y H, YANG W L, GONG Q F. HPLC Determination of Strychnine and Brucine in Semen Strychni and its Processed Products [J]. Chinese Journal of Chinese Materia Medicine, 2002, 27 (12): 899-901.
- [3] JING X Q, LIU Y G, LI L F, et al. Determination of strychnine in Fenshi Antai tablets by HPLC [J]. Chinese Journal of Current Traditional and Western Medicine, 2003, 1 (12): 144-146.

收稿日期: 2007-09-03