

# 高效液相色谱法测定接骨挫伤胶囊中土的宁含量

孙凌, 李永吉\*, 王艳宏, 管庆霞, 吕邵娃  
(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的: 建立接骨挫伤胶囊中土的宁的含量测定方法。方法: DIKMA C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(76:230:2.4:0.3), 检测波长 254 nm, 流速 1.20 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C。结果: 土的宁在 0.06 ~ 1.20 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 98.2%, RSD 2.2%。结论: 该方法简单, 重复性好, 可用于接骨挫伤胶囊的质量控制。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 土的宁; 接骨挫伤胶囊

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0098-02

## Determination of Strychnine in Jiegu Cuoshang Capsule by HPLC

SUN Ling, LI Yong-ji\*, WANG Yan-hong, GUAN Qing-xia, LV Shao-wa  
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method for the content determination of strychnine in Jiegu Cuoshang capsule. **Method:** HPLC was performed on DIKMA C<sub>18</sub> column(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of methanol-water-glacial acetic acid-triethylamine (76:230:2.4:0.3) and detecting at 254 nm. The flow rate was 1.20 mL·min<sup>-1</sup>, and the temperature was 30 °C. **Result:** The linear range of strychnine was 0.06 – 1.20 μg ( $r = 0.9998$ ). The average recovery was 98.2%, and RSD was 2.2%. **Conclusion:** The method is simple, feasible, and reproducible, and it can be used for the quality control of Jiegu Cuoshang Capsule.

**[Key words]** HPLC; strychnine; Jiegu Cuoshang capsule

接骨挫伤胶囊(处方来自《良方集腋》)由制马钱子、三七、甘草、当归等中药材组成,具有活血化瘀,续筋接骨之功效,用于跌打损伤、瘀滞作痛、伤筋骨折、创伤出血。临床疗效确切,为有效地控制其质量,作者参照文献报道[1-3],研究建立了高效液相色谱法,测定该复方制剂中土的宁的含量,该法操作简单,分离度、回收率高,适用于控制接骨挫伤胶囊的质量。

### 1 仪器与试剂

Waters2695 型高效液相色谱仪, AB265-S 型电子分析天平(德国梅特勒公司)。

土的宁对照品(批号 0785-201025), 由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇为色谱纯, 水为二次蒸馏水, 其余试剂均为分析纯; 接骨挫伤胶囊, 由本制剂室自制。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** DIKMA C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 254 nm, 流动相甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(76:230:2.4:0.3), 流速 1.20 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C。

**2.2 对照品溶液的制备** 取土的宁对照品 3.7 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 8 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 中含土的宁 0.12 mg)。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 粒的内容物, 精密称定, 约 3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加氢

[收稿日期] 20101120(003)

[第一作者] 孙凌, 在读硕士, 从事中药新药开发研究, Tel: 15124522368, E-mail: sl.0110@163.com

[通讯作者] \* 李永吉, 教授, 博导, 从事药学研究, Tel: 0451-82196331, E-mail: liyongji2009@163.com

氧化钠试液 15 mL,混匀,放置 30 min,再精密加入三氯甲烷 100 mL,密塞,称定质量,置水浴上回流提取 2 h,放冷,再称定质量,用三氯甲烷补足减失的质量,摇匀,通过铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 20 mL,回收挥干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,放置,取上清液,0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.4 空白干扰试验** 取除去马钱子以外的其他药材,按样品制备方法制成阴性液。精密吸取供试品溶液、阴性液、对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪中,绘制液相色谱图,由色谱图提示,在对照品色谱相应的位置上,供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰,阴性液在此峰位无吸收,对本品中土的宁含量测定无干扰,方法专属性良好。

**2.5 线性关系考察** 精密吸取上述对照品贮备液(0.12 mL·min<sup>-1</sup>) 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 10 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,从中分别精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积,以进样含量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归分析,结果表明土的宁在 0.06 ~ 1.20 μg 线性关系良好,回归方程  $Y = 2 \times 10^6 X - 24 473$  ( $r = 0.999 8$ )。

**2.6 精密度试验** 取同一批号样品(批号 080915),用含量测定方法重复测定,每次 20 μL,6 次进样,测定峰面积,结果 RSD 2.0%。

**2.7 重复性试验** 取 5 份(批号 080915)样品分别按 2.3 项下方法操作,测定土的宁含量, RSD 1.28%,符合规定标准,表明重现性良好。

**2.8 稳定性试验** 取含量测定项下的供试品溶液(批号 080915),按含量测定的方法操作,分别于 0, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h,每次进样 20 μL,测得样品中土的宁峰面积,结果 RSD 2.1%,表明供试液在 24 h 内稳定性良好。

**2.9 加样回收率试验** 精密称取土的宁对照品适量,加入已测知土的宁含量的样品(取约 0.006 mg,精密称定),置具塞锥形瓶中,加氢氧化钠试液 15 mL,混匀,按供试品溶液的制备方法制备,进样,测定,计算回收率平均值为 98.2%,RSD 2.2%。

**2.10 定量限测定** 配制浓度适当的土的宁对照品溶液,进样 5 μL,当信噪比 S/N 为 10 时,定量限为 104 ng·mL<sup>-1</sup>。

**2.11 3 批样品测定结果** 精密称取 3 批样品,每批 3 g,按 2.3 项下方法测定 3 批样品结果,结果表明每粒中土的宁含量分别为 0.84, 0.82, 0.85 μg。

### 3 讨论

本实验用流动相甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(76:230:2.4:0.3),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm,结果样品分离不好,峰形不好,将流速变 1.2 mL·min<sup>-1</sup>,样品分离好,峰形好,在土的宁出峰处,阴性无干扰,所以选择 1.2 mL·min<sup>-1</sup>。

含量测定结果显示,对酸水和三氯甲烷萃取各 5 次后,浓缩后注入液相色谱仪测定,杂质峰无明显减少,土的宁峰形很小,说明萃取后土的宁含量很少,所以样品无需进行精制处理。

参考《中国药典》2005 年版马钱子粉限量检查项下,马钱子粉中土的宁的限量为 0.78% ~ 0.82%。按接骨挫伤胶囊处方中马钱子投料量计算,本品每粒应含土的宁的理论值应为 27.3 ~ 28.7 μg/粒。但是,实际测量结果显示本品中土的宁的含量在 0.82 ~ 0.85 μg/粒。分析接骨挫伤胶囊中土的宁含量较低的原因,有可能是处方中土的宁与甘草中甘草酸形成难溶于水的化合物而降低了土的宁的溶出,所以土的宁含量明显下降。根据上述 3 批样品中土的宁的含量可知,不同批次甘草药材中甘草酸的含量不同,直接影响着制剂中土的宁的含量。考虑到保证该制剂的有效和无毒两方面因素,接骨挫伤胶囊的土的宁限量,应为 0.82 ~ 0.85 μg/粒,因此该限量范围的制定是可行、可靠、可控的。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:附录 34.
- [2] 管庆霞,王录娜,李永吉,等.马钱子不同提取方法的比较研究[J].中华中医药学刊,2009,27(4):815.
- [3] 管庆霞,王录娜,李永吉,等.大孔吸附树脂纯化马钱子总生物碱的工艺研究[J].时珍国医国药,2009,20(6):1429.

[责任编辑 仝燕]