

高效液相色谱法测定跳骨片中士的宁的含量

张 薇^{1*}, 卫昌华²

(1. 吉林精优长白山药业有限公司, 吉林 长春 130033; 2. 长春市中心医院, 吉林 长春 130051)

[摘要] 目的: 应用高效液相色谱法测定跳骨片中士的宁的含量。方法: 采用 Shim-pack-C₁₈ 柱(5 μm, 150 mm × 4.6 mm); 乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8) (21: 79) 为流动相; 流速 1 mL/min; 检测波长为 260 nm; 柱温: 30 °C。结果: 士的宁线性范围为 0.130 4~ 0.652 μg, $r = 0.999 8$, 回收率为 97.97%, RSD= 0.90%。结论: 该方法操作简便、准确、灵敏, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 士的宁; 跳骨片

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)07-0007-02

跳骨片是由骨碎补、煅自然铜、土鳖虫、乳香、没药等 20 味中药组成的复方制剂。具有消肿定痛, 活血舒筋, 促进骨痂生长。用于骨折, 脱臼, 新久伤痛。方中马钱子为主要药物, 我们选择马钱子中士的宁含量作为本品含量测定的成分指标。文献已见薄层扫描法测定跳骨片中士的宁含量的报导^[1], 本文采用 HPLC 色谱法对跳骨片剂中士的宁进行含量测定, 以便更好地控制产品的质量, 保证安全及疗效。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪; SPD-10 A 紫外检测器; KQ-250 型超声波处理器; 士的宁对照品(购于中国药品生物制品检定所, 批号: 0705-200205, HPLC 面积归一化法, 测定含量为 99.05%); 跳骨片(市售); 甲醇为色谱纯, 产于美国。其它试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件^[2] 色谱柱: Shim-pack-C₁₈ 柱(5 μm, 4.6 mm × 150 mm), 流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8) (21: 79), 流速: 1 mL/min, 紫外检测波长: 260 nm, 理论塔板数按士的宁计算应不低于 5 000; 柱温为室温。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取士的宁对照品适量, 加氯仿-甲醇(1: 2) 制成每 1 mL 含 0.03 mg 的

溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 研细, 取约 2.7 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加氢氧化钠试液 8 mL, 混匀, 放置 30 min, 精密加入氯仿 40 mL, 称定重量, 回流提取 2 h, 取出, 放冷, 再称定重量, 加氯仿补足减失的重量, 摇匀, 分取氯仿层, 用铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过, 精密吸取滤液 13 mL(剩余滤液备用), 蒸干(60 °C 以下), 残渣加氯仿-甲醇(1: 2) 混合液溶解并定容至 10 mL 的棕色量瓶中, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含马钱子药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪中, 按色谱条件测定, 结果表明, 阴性对照色谱图中与对照品相同保留时间处无干扰见图 1~ 3。

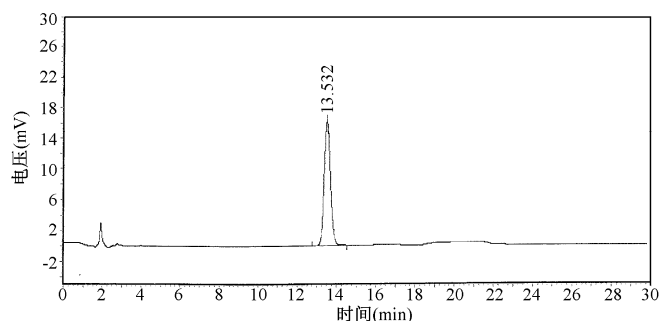


图 1 士的宁对照品 HPLC 色谱图

2.5 线性关系考察 精密吸取士的宁对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL, 分别注入高效液相色谱仪中进行分析, 以对照品进样量(μg) 为横坐标, 以对照品的峰面积为纵坐标, 回归方程为: $Y = 943 592.659X +$

[收稿日期] 2006-06-26

[通讯作者] * 张薇, Tel: (0431) 84520956; E-mail: jc Zhangwei@

126.com

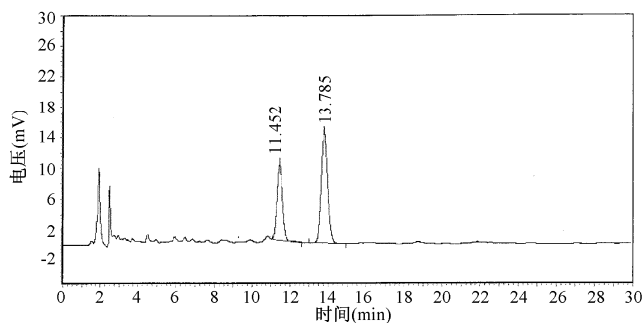


图 2 跳骨片供试品 HPLC 色谱图

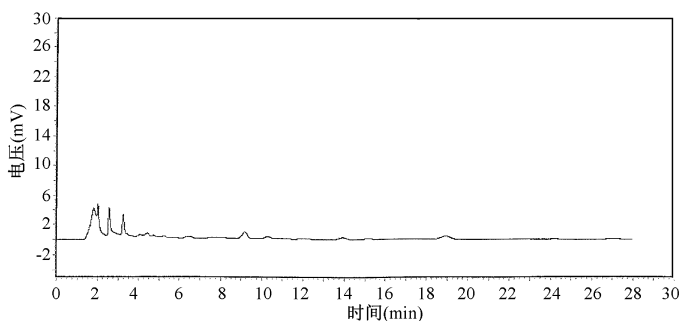


图 3 阴性对照 HPLC 色谱图

6.763.774, $r = 0.9998$, 结果表明士的宁在 0.1304~0.652 μg 间呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液连续 5 次重复进样, 测得相对偏差 $RSD = 0.32\%$ 。

2.7 稳定性试验 在制得供试品溶液后 0, 2, 4, 6 h, 分别精密吸取供试品溶液 10 μL , 测定。结果士的宁峰面积的 $RSD = 0.40\%$, 表明在 6 h 内供试品溶液的士的宁含量稳定。

2.8 重复性试验 取同 1 批样品, 按本文方法独立测定 5 次, 依法进样测定, 样品中士的宁含量 $RSD = 1.09\%$, 结果表明其重现性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取士的宁对照品适量, 加入已测士的宁含量的跳骨片样品, 加氢氧化钠试液 16 mL, 混匀, 放置 30 min, 精密加入氯仿 80 mL, 称定重量, 回流提取 2 h, 取出, 放冷, 再称定重量, 加氯仿补足减失的重量, 摇匀, 分取氯仿液, 用铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过, 精密吸取滤液 5 mL, 低温蒸干, 残渣加氯仿-甲醇 (1:2) 溶解并定容至 10 mL, 制得供试品溶液, 进样 10 μL , 计算回收率, 结果见表 1。

2.10 样品测定 按本文 2.2 与 2.3 项下分别制备对照品溶液和供试品溶液, 按上述色谱条件, 依法进样测定, 共测定 3 批样品, 结果见表 2。

表 1 加样回收率试验测定结果

样品取量 (g)	样品中士的宁含量 (mg)	士的宁对照品加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)
7.0415	2.6983	3.25	5.8873	98.12
7.0028	2.6835	3.37	5.9458	96.80
7.0682	2.7085	3.38	6.0531	98.95
7.0638	2.7068	3.04	5.7043	98.60
7.0047	2.6842	3.16	5.7616	97.39
$\bar{x} = 97.97\%$ $RSD = 0.90\%$				

表 2 跳骨片中士的宁含量测定结果

批号	士的宁含量 (mg/片)	
20051201	0.132	0.135
20051202	0.125	0.119
20051203	0.131	0.132

3 讨论

曾对供试品溶液制备方法进行了考察, 采用了甲醇、乙醇、碱化氯仿 (药典方法) 3 种方法进行回流提取, 经测定, 结果表明, 甲醇、乙醇为溶媒提取, 干扰成分很多, 分离不开, 并且含量较低, 提取不完全, 而采用后种方法提取, 则杂质少, 提取完全, 故我们采用药典方法。按此方法, 称取 3 份, 分别依次回流提取 1, 2, 3 h, 经测定, 其结果含量依次为 0.297, 0.385, 0.386 mg/g, 表明回流提取 2 h, 可使士的宁提取完全, 故确定回流提取时间为 2 h。

有关士的宁的 HPLC 含量测定方法较多, 流动相有采用乙腈、磷酸溶液、三乙胺等系统^[2]。我们以实验摸索, 采用上文系统, 色谱分离效果较为满意, 分离度及峰形对称性较好。

[参考文献]

- [1] 郭素华, 潘馨. 跳骨片质量控制方法的研究[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(1): 53-55.
- [2] 宋祥满, 徐杰远. 高效液相色谱法测定腰腿痛丸中士的宁的含量[J]. 中国药业, 2005, 14(8): 34-35.