

高效液相色谱法测定心可宁胶囊中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的含量

刘东辉¹, 李 军², 黄意甜¹, 周欣欣¹

(1 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2 广州市荔湾区中医院, 广东 广州 510150)

摘要: 用 HPLC 法测定心可宁胶囊中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的含量。用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 0.5% 磷酸二氢钾溶液-乙腈(50:50)(用磷酸调 pH 值 3.2) 为流动相分离效果最佳。平均回收率华蟾酥毒基为 99.29%, RSD 为 1.47%; 脂蟾毒配基为 99.13%, RSD 为 1.65% ($n=5$)。本法简单、灵敏、重复性好。

关键词: 心可宁胶囊; 华蟾酥毒基; 脂蟾毒配基; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)06-0026-02

心可宁胶囊由丹参、三七、蟾酥等八味中药组成, 主要用于治疗冠心病, 心绞痛, 胸闷, 心悸, 眩晕等症。为控制该产品质量, 对其中的蟾酥中华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的含量进行了测定, 并建议设立华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的含量限度。试验表明, 采用 HPLC 法分析结果满意, 灵敏度高, 重复性好, 可作为心可宁胶囊的质控标准之一。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及样品 HP1050 高效液相色谱仪; 紫外检测器; 色谱柱: Hypersil ODS(250×4mm, 5 μ m); 心可宁胶囊(批号 20030111; 20030112; 20030113); 乙腈为色谱纯试剂, 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯; 华蟾酥毒基(803-9202)、脂蟾毒配基(0718-9001)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 色谱条件 采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以 0.5% 磷酸二氢钾溶液-乙腈(50:50)(用磷酸调 pH 值 3.2) 为流动相; 检测波长为 296nm。理论板数按华蟾酥毒基峰、脂蟾毒配基峰计算应分别不低于 4000。在此条件下华蟾酥毒基峰、脂蟾毒配基峰的分离度均大于 1.5, 阴性对照无干扰。

1.3 对照品溶液的制备 分别精密称取五氧化二磷减压干燥 24h 的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 各含 50 μ g 的混合溶液, 摇匀, 即得。

1.4 供试品溶液的制备 取本品 8 粒内容物, 精密称定, 置索氏提取器中, 加氯仿约 100mL, 回流提取 6h, 提取液蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5mL 量瓶内, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

1.5 线性关系 分别精密称取华蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品适量, 用甲醇溶解, 分别制成每 1mL 含 0.5mg 的对照品溶液(每 1mL 含华蟾酥毒基 0.5424mg、脂蟾毒配基 0.56mg)。分别精密吸取上述对照品溶液各 5mL, 置 20mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 得混合对照品溶液。再精密吸取上述混合对照品溶液各 0.25、0.5、1、2、3、4mL 置 5mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得系列浓度的混合对照品溶液。精密吸取系列浓度的混合对照品溶液各 20 μ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 进样量(μ g) 为横坐标进行线性回归, 结果线性关系均良好, 华蟾酥毒基回归方程为 $Y=728.07193X+14.92631$, $r=0.9998$, 线性范围为 0.1356~2.1696 μ g; 脂蟾毒配基回归方程为 $Y=764.95501X+13.44669$, $r=0.9998$, 线性范围为 0.14~2.24 μ g。

1.6 精密度试验 精密吸取上述混合对照品溶液(每 1mL 含华蟾酥毒基 54.24 μ g、脂蟾毒配基 56 μ g) 20 μ L, 重复进样 5 次, 测得峰面积积分值, 结果表明精密度良好。华蟾酥毒基 RSD 为 1.55%, 脂蟾毒配基 RSD 为 1.65%。

1.7 稳定性试验 精密吸取同一混合对照品溶液(每 1mL 含华蟾酥毒基 54.24 μ g、脂蟾毒配基 56 μ g) 20 μ L, 按上述色谱条件, 分别在 0.4、0.8、1.2、1.6h 测定峰面积积分值, 结果表明 16h 内较稳定, 华蟾酥毒基

收稿日期: 2004-11-30

通讯作者: 刘东辉, Tel: (020) 36585521, E-mail: ldh2v006@yahoo.

com.cn

RSD 为 1.99%, 脂蟾毒配基 RSD 为 2.46%。

1.8 重复性试验 按拟定的含量测定方法, 对同一批样品(20030111)平行做 5 份, 并计算含量, 结果表明方法有较好的重复性, 华蟾酥毒基 RSD 为 1.12%, 脂蟾毒配基 RSD 为 1.73%, 总量 RSD 为 1.25%。

1.9 回收率测定 采用加样回收法, 精密称取已知含量的样品(20030111)约 1.7g, 分别精密称定, 各加入一定量的华蟾酥毒基及脂蟾毒配基对照品, 按供试品溶液制备项下操作, 平行操作 5 份, 按色谱条件测定含量, 按公式 $R\% = (A - B) / C \times 100\%$ (A: 加入对照品后测得总量, B: 样品中所含被测成分量, C: 加入对照品量) 计算回收率, 结果表明回收率良好, 见表 1。

表 1 蟾酥含量测定回收率试验结果($n = 5$)

成分	序号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
华蟾酥毒基	1	0.1401	0.1432	0.2801	97.80	99.29	1.47
	2	0.1415	0.1432	0.2831	98.91		
	3	0.1422	0.1432	0.2832	98.43		
	4	0.1460	0.1432	0.2888	99.73		
	5	0.1440	0.1432	0.2894	101.57		
脂蟾毒配基	1	0.0857	0.0940	0.1770	97.10	99.13	1.65
	2	0.0866	0.0940	0.1792	98.52		
	3	0.0871	0.0940	0.1796	98.43		
	4	0.0894	0.0940	0.1839	100.58		
	5	0.0881	0.0940	0.1831	101.04		

1.10 样品含量测定 根据正文制定的方法, 测定了 3 批样品中的华蟾酥毒基与脂蟾毒配基总量含量, 结果见表 2。

表 2 样品中蟾酥含量测定结果(mg/粒)

批号	华蟾酥毒基与脂蟾毒配基总量	RSD(%)
20030111	0.0533	1.70
20030112	0.0537	1.00
20030113	0.0528	2.49

根据含量测定结果及制剂中蟾酥的量, 参考《中国药典》2000 年版一部蟾酥的含量限度(按干燥品计含华蟾酥毒基及脂蟾毒配基的总量应不少于 6.0%)^[1], 并参考有关文献资料, 暂定本品每粒胶囊含华蟾酥毒基及脂蟾毒配基的总量应不少于 0.04mg。

2 讨论

《中国药典》2000 年版“蟾酥”是采用甲醇回流提取方法, 由于制剂中蟾酥的量很小, 采用甲醇回流提取方法, 提取成分杂质多, 样品由于浓度小, 造成检出困难。根据华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的极性较小, 易溶于氯仿, 故选择氯仿为提取溶媒的索氏回流提取方法。分别以 5、6、7h 等不同提取时间进行试验, 结果显示回流提取 5h 已提取完全(提取液无色), 故确定提取时间为 6h。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 316.