

反相高效液相色谱法测定注射用苦参碱的含量^{*}

刘 杰¹, 张 莉², 任 斌³

(1. 中山大学附属第三医院药剂科, 广东 广州 510630;

2. 杭州市民生药业集团有限公司, 浙江 杭州 310011;

3. 中山大学附属第一医院药学部, 广东 广州 510080)

摘 要: 反相高效液相色谱法测定注射用苦参碱的含量。十八烷基硅烷键合硅胶为固定相; 流动相为乙腈—0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(体积比为1:9, 用1 mol/L 的NaOH 溶液调节pH 至6.0)。苦参碱在30~150 mg/mL 浓度范围内线性关系良好($r=0.9998$, $n=5$), 平均回收率为100.10%, $RSD=1.04\%$ ($n=9$)。所建立的高效液相色谱法适用于注射用苦参碱的含量测定。

关键词: 注射用苦参碱; 反相高效液相色谱法; 测定

中图分类号: O652.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2003) 03-0116-02

文献报道苦参碱的含量测定方法有薄层扫描法^[1]及高效液相色谱法^[2]等。由于前者理论塔板数较小, 分离效果差, 故高效液相色谱法是目前应用最为广泛的测定法, 分离效果较好, 检测灵敏度高。本文中选用反相高效液相色谱法测定了自制注射用苦参碱的含量, 并对方法学进行了考察。

1 仪器与试剂

1.1 仪 器 LC-10ATvp 高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10Avp 紫外检测器(日本岛津), HS2000(通用版) 色谱工作站(杭州英谱科技开发有限公司)。

1.2 试 药 注射用苦参碱(自制), 苦参碱对照品(中华人民共和国药品生物制品检定所), 乙腈(HPLC 级, 美国TEDIA), 其他试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 检测波长的选择 取苦参碱对照品适量, 用流动相溶解并稀释成浓度约为100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 于190~400 nm 范围内进行紫外扫描, 测得苦参碱的最大吸收波长为208 nm。

2.2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm);

流动相: 乙腈—0.02 mol/L KH₂PO₄ 溶液, 体积比为1:9, 用1 mol/L NaOH 溶液调节pH 至6.0;

流速: 1 mL/min;

检测波长: 208 nm;

柱温: 室温;

进样量: 20 μL , 理论塔板数为8 419。

2.3 辅料干扰实验 精密称取空白辅料适量, 用流动相溶解并配制成浓度为100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 在

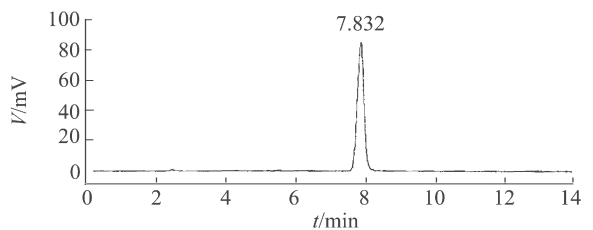


图1 苦参碱对照品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of chemical reference substance of matrine

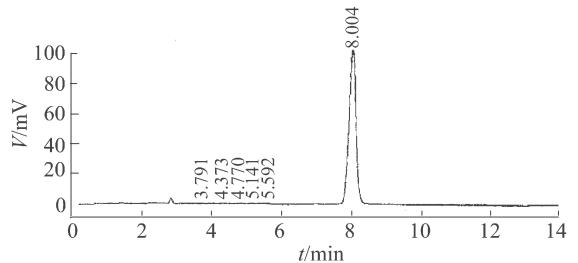


图2 注射用苦参碱的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of matrine for injection

上述色谱条件下取20 μL 进样, 记录色谱图, 结果表明空白辅料不干扰苦参碱峰的测定。

2.4 线性范围 称取苦参碱对照品约15 mg, 精密称量。置25 mL 量瓶中, 加入适量流动相振摇使溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 得苦参碱对照品贮备液(0.6 mg/mL), 分别精密量取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 置10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 配制成5个梯度浓度的溶液。分别吸取上述溶液各20 μL 进样, 记录色谱图及峰面积 s , 以 s 对

* 收稿日期: 2003-04-04

作者简介: 刘 杰 (1975年生) 男, 药师; E-mail: wallace_lu@163.com

浓度 c 进行线性回归, 即得标准曲线方程。

$s = -118367 + 40097c, r = 0.9998, n = 5$

结果表明, $30 \sim 150 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 苦参碱对照品的 s 与 c 之间线性关系良好。

2.5 溶液稳定性 取同一批号的苦参碱样品, 配制成浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的溶液, 于 0、6、12 h 测定其标示含量。结果表明, 苦参碱溶液在室温条件下放置 12 h, 苦参碱的含量基本不变。

2.6 回收率 精密称取空白辅料 15 mg, 置 10 mL 量瓶中, 分别加入高、中、低 3 个剂量各 3 份苦参碱对照品, 用流动相溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 流动相稀释 10 倍, 进样 $20 \mu\text{L}$, 计算含量和回收率 (见表 1)。结果表明, 苦参碱在空白辅料溶液中的回收率良好。

表 1 苦参碱在空白辅料溶液中的回收率¹⁾
Tab 1 Recovery of matrine in blank excipient solution

编号	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%
1	6.0	6.10	101.67
2	6.5	6.42	98.77
3	5.9	5.84	98.98
4	15.9	15.76	99.12
5	16.5	16.64	100.85
6	14.4	14.54	100.97
7	22.4	22.46	100.27
8	21.9	22.10	100.91
9	22.1	22.03	99.68

1) 平均回收率为 100.10%, RSD 为 1.04%

2.7 精密度 将浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的苦参碱对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 以其峰面积的平均值作为 100%, 计算标示含量, 它们分别为 99.34%, 99.79%, 100.56%, 98.99%, 99.16%, 100.44%, RSD 为 0.67%。结果表明, 精密度符合

含量测定要求。

2.8 重复性 取同一批号的供试品 10 支, 取出内容物, 压碎混匀, 分别称取 100 mg 6 份, 加流动相稀释至 100 mL, 精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 取 $20 \mu\text{L}$ 进样, 测定含量, 它们分别为 99.25%, 98.76%, 99.84%, 98.35%, 98.95%, 99.24%, RSD=0.51%。结果表明本方法重现性好。

2.9 样品测定 称取编号为 20010509, 20010511, 20010513 共 3 个样品约 100 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量溶解, 并加流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1.00 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 进样 $20 \mu\text{L}$, 记录苦参碱峰面积, 同时取相同体积的浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的苦参碱对照品溶液进样。按外标法计算含量分别为 99.56%, 99.81%, 99.02%。

3 讨论

苦参碱为从苦豆子或苦参中提取的生物碱, 尽管含量达到 98% 以上, 但尚含有一定量的其他生物碱等杂质, 因此为尽可能准确地测定苦参碱的含量, 必须建立一种分离度高, 准确灵敏的含量测定法。本文根据苦参碱为碱性物质的特点, 通过调节流动相的 pH 值, 经多次筛选, 确定了本方法。经方法学考察本法准确、灵敏、可靠。适用于注射用苦参碱的含量测定, 并对苦参碱其他制剂的含量测定有参考意义。

参考文献:

[1] 王诗用, 周海. 薄层扫描法测定湿毒清胶囊中的苦参碱含量[J]. 中成药, 1994, 16(12): 15—16

[2] 王平全, 陆国红, 周贤彪, 等. 苦参碱的人体药代动力学[J]. 药学学报, 1994, 29(5): 326—329.

Determination of Matrine for Injection by RP-HPLC

LIU Jie¹, ZHANG Li², REN Bin³

(1. Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China;
2. Hangzhou Minsheng Pharmaceutical Co., Ltd Hangzhou 310011, China;
3. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: To determinate matrine for injection, RP-HPLC analysis is carried out by using diamonsil C₁₈ column and mobile phase of acetonitrile—0.02 mol/L KH₂PO₄ (1:9, pH=6.0). The linear range of matrine is 30 ~ 150 mg/mL ($r=0.9998, n=5$). The average recovery is 100.10% and RSD=1.04% ($n=9$). The method is suitable for the determination of the content of matrine for injection.

Key words: matrine for injection; RP-HPLC; determination