

RP-HPLC 法测定莫诺苯宗的含量

张爱华, 张悦晗, 陈新菊(江西省药物研究所, 江西 南昌 330029)

摘要 目的:建立莫诺苯宗含量测定的 HPLC 方法。方法:选用 Alltima C₁₈(250mm×4.6mm, 5μm) 色谱柱, 乙腈-水(60:40)为流动相,检测波长:292nm,流速为 1.0mL/min,进样量 20μL。结果:莫诺苯宗在浓度为 0.05~0.5mg/mL 范围内呈良好的线性关系。回归方程为 $Y = 7\ 965\ 580.74X + 20\ 316.39$, $r = 0.999\ 96$, 回收率为 100.33%, $RSD = 0.66\%$, $n = 9$ 。结论:本法简便、灵敏、准确、重现性好。

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2003)06-0350-02

莫诺苯宗(monobenzene)是国外 70 年代开发上市的外用脱色消斑药物,至今美国药典一直收载(USP26^h,2003),我们对该药进行了研制开发,并对其含量及纯度检验方法进行了系统研究。美国药典 26 版采用紫外分光光度法测定其含量,为确保新药质量,本实验选用了灵敏度高,专属性强的 HPLC 方法,同时与 UV 法进行了比较。目前关于莫诺苯宗的 HPLC 含量测定方法未见文献报道。

1 仪器与试剂

Waters 液相色谱仪,515 泵,2487 检测器。乙腈为色谱纯,水为重蒸水,莫诺苯宗对照品与样品由本所研制提供。

2 色谱条件

Alltima C₁₈(250mm×4.6mm, 5μm) 色谱柱,乙腈-水(60:40)为流动相,检测波长:292nm,流速为 1.0mL/min,进样量 20μL。

3 方法与结果

3.1 系统适用性试验 分别取莫诺苯宗及有关物质二苄醚,对苯二酚,氯化苄按上述色谱条件测定。在该色谱条件下,莫诺苯宗的保留时间约为 6.5min,并与各有关物质均达到良好的分离。

3.2 线性关系的考察 精密称取莫诺苯宗对照品 100mg 于 100mL 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密量取 0.5、1、2、3、4、5mL 于 10mL 量瓶中,加流动相稀释到刻度,分别进样 20μL。按上述色谱条件测定,以峰面积为纵座标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,结果表明,莫诺苯宗在 0.05~0.5mg/mL 浓度范围内呈良好的线性关系,回归方程为 $Y = 7\ 965\ 580.74X + 20\ 316.39$, $r = 0.999\ 96$ 。

3.3 最低检出量与最低定量限 以信噪比为 3:1 时计算,莫诺苯宗的最低检出量为 0.23ng,信噪比为 10:1 时计算的莫诺苯宗最低定量限为 2.24ng。

3.4 精密度与稳定性试验 精密称取莫诺苯宗对照品适量,加流动相制成 0.3mg/mL 溶液,重复进样 5 次,每次进样 20μL,莫诺苯宗峰面积的 RSD 为 0.16%。取上述溶液分别于 0、2、4、6、8、12、24 小时测定,每次进样 20μL,莫诺苯宗的峰面积的 RSD 为 0.24%。

3.5 回收率试验 精密称取已知含量的原料,分低、中、高 3 个不同浓度,各 3 份,分别精密加入相应量的对照品,依法测定,计算加样回收率。结果回收率为 100.33% ($n = 9$), RSD 为 0.66%。见表 1。

表 1 回收率试验结果

编号	样品量 (mg)	加入对照品量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	9.84	10.24	20.20	101.17		
2	9.56	10.44	19.98	100.96		
3	9.83	10.12	20.08	101.28		
4	15.85	14.75	30.55	99.66		
5	14.37	16.50	30.87	100.00	100.33	0.66
6	16.35	14.65	31.05	100.34		
7	21.76	20.84	42.61	100.05		
8	21.16	19.60	40.77	100.05		
9	21.43	20.65	41.96	99.42		

3.6 样品测定 精密称取莫诺苯宗适量,用流动相溶解并稀释成约 0.3 mg/mL 的浓度,按上述色谱条件测定,并与紫外分光光度法比较,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	HPLC (%)	RSD (%)	UV (%)	RSD (%)
1	99.94	0.57	100.05	0.29
2	99.81	0.52	99.85	0.29
3	99.85	0.35	99.87	0.33

4 讨论

4.1 本品的 HPLC 法尚未见文献报道,根据莫诺苯宗的紫外最大吸收波长 292nm,选用 C₁₈ 柱进行了分离条件的试验,通过甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水等多种流动相系统及不同配比的筛选,确定

了上述色谱条件。

4.2 实验结果表明,用 RP-HPLC 法与紫外分光光度法测定莫诺苯宗原料药的含量结果是一致的。紫外法操作更简便快捷,但 HPLC 法能够检测出微量有关物质,更有利于监测本药物的纯度。因此,本

法不仅可用于原料药及制剂的含量测定,更适用于测定对照品的含量。

参考文献:

[1] USP XX IV[S]. 2003:1251.

收稿日期:2003-10-28

高效液相色谱法测定延胡索中延胡索乙素的含量

马临科(浙江省药品检验所,浙江 杭州 310004)

摘要 目的:建立高效液相色谱法测定中药材延胡索中延胡索乙素的含量。方法:以 Agilent zobax Extend C₁₈(250mm×4.6mm,5μm)为色谱柱,甲醇-0.1%磷酸(三乙胺调 pH 值至 6.0)(55:45)为流动相,流速 1.0mL/min,检测波长:280nm。结果:延胡索乙素在 115~1376ng 范围内线性关系良好,平均回收率为 99.2%,RSD=1.5%(n=6)。结论:该方法简便,重现性好,可作为中药材延胡索的质量控制方法。

关键词 延胡索;延胡索乙素;高效液相色谱法

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2003)06-0351-03

Determination of dl-Tetrahydropamine in Yanhusuo by HPLC

MA Lin-ke (Zhejiang provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004)

ABSTRACT OBJECTIVE: An HPLC method was developed for determination of dl-Tetrahydropamine in Yanhusuo. **METHOD:** The column was ODS Agilent zobax Extend C₁₈(4.6×250mm,5μm), mobile phase was Methanol-0.1% phosphoric acid (adjust pH 6.0 with Triethylamine)(55:45). Detection wavelength was set at 280nm. **RESULT:** Linearity range was 115~1376ng, The average recovery was 99.2%, RSD=1.5%(n=6). **CONCLUSION:** The method is accurate and can be used for quality control of Yanhusuo.

KEY WORDS Yanhusuo;dl-Tetrahydropamine;HPLC

延胡索为常用中药,具活血、利气、止痛等功效,主要用于胸肋、腕腹疼痛,经闭痛经及跌扑肿痛。延胡索含有多种生物碱,主要为原小檗碱型生物碱延胡索甲素、延胡索乙素、延胡索丙素等,另含原阿片碱、d-海罂粟碱等^[1]。其中以延胡索乙素的止痛镇静作用最强^[2]。中国药典 2000 年版中尚未制订延胡索的含量测定方法,为有效控制本品质量,现采用高效液相色谱法测定延胡索中延胡索乙素的含量。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪(包括 G1311 四元泵,G1322 自动进样器,G1322 脱气机,G1314A 紫外可见检测器,G1316 柱温箱,配备 HP 工作站);岛津 UV-260 紫外可见分光光度计。

甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余为分析纯。

延胡索乙素对照品(由中国药品生物制品检定所提供,供含量测定用,批号为 0726-9906),延胡索药材 12 批,来源见表 2。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 检测波长的选择 取延胡索乙素对照品溶液,置紫外-可见分光光度计中进行光谱扫描,结果显示在 280.6nm 处有最大吸收波长,故选择 280nm 作为检测波长。

2.1.2 流动相的选择 结合延胡索乙素的化学性质,曾试验甲醇-磷酸盐缓冲液、乙腈-磷酸盐缓冲液、甲醇-0.1%磷酸、甲醇-0.1%磷酸(三乙胺调 pH 值至 6.0)等流动相试验,结果以甲醇-0.1%磷酸(三乙胺调 pH 值至 6.0)分离效果最佳且峰形良好。