

- [5] 王永梅,王雪峰,沙明. HPLC法定量分析小柴胡汤中黄芩苷的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2003,30(11):882.
- [6] Ohtake N, Nakai Y, Yamamoto M, *et al.* Separation and isolation methods for analysis of the active principles of Sho-saiko-to (SST) oriental medicine [J]. Journal of Chromatography B, 2004, 812: 135.
- [7] 吕凤莲,方彬,张宇. 高效液相色谱法测定炙甘草中甘草酸的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2004,18(4):25.
- [8] 施超欧,栾绍嵘. 离子色谱法测定甘草提取物中甘草酸的含量[J]. 化学分析计量, 2005,14(3):38.
- [9] 贾晓光,倪慧,波拉提,等. HPLC法测定种植甘草中甘草酸含量[J]. 新疆中医药, 2003,21(4):9

收稿日期:2006-07-14

## 酸性染料比色法测定复方颠茄合剂中莨菪碱含量

傅翔,范尚坦,李金兰,张一帆,谢宝英(南京军区福州总医院,福建福州 350025)

**摘要** 目的:研究复方颠茄合剂中莨菪碱的含量测定方法。方法:采用酸性染料比色法在 pH 6.6 磷酸盐缓冲液条件下测定莨菪碱的含量,检测波长(589 ± 1) nm。结果:莨菪碱在 1.2 ~ 7.2 μg/mL 浓度范围内呈线性,  $r = 0.9991$ , 平均回收率为 100.02%, ( $RSD = 0.69\%$ ,  $n = 4$ )。结论:该法准确、方便、灵敏,可供该制剂的含量测定。该法关键在于调准 pH, 以免处方中其它组分干扰测定结果。

**关键词** 酸性染料比色法;复方颠茄合剂;莨菪碱;含量

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2006)06-0334-03

## Determination of content of hyoscyamine in compound belladonna mixture by acid dye colorimetry

FU Xiang, FAN Shang-tan, LI Jin-lan, ZHANG Yi-fan, XIE Bao-ying (Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China)

**ABSTRACT Objective:** To determine hyoscyamine in compound belladonna mixture. **Method:** Acid dye colorimetry was used in pH 6.6 with the detection wavelength at (589 ± 1) nm. **Results:** The linear ranges of the standard curve was 1.2 ~ 7.2 μg/mL ( $r = 0.9991$ ). The average recovery of the assay was 100.02% ( $RSD = 0.69\%$ ,  $n = 4$ ). **Conclusions:** This method is accurate, convenient and sensitive for the quality control of hyoscyamine in compound belladonna mixture. The key of this method is exactly control of pH in order to avoid the disturbance.

**KEY WORDS** acid dye colorimetry; compound belladonna mixture; hyoscyamine; content

复方颠茄合剂为含有剧毒药物成分的口服标准制剂。但 1991 年版和 2003 年版的《中国人民解放军医疗单位制剂规范》<sup>[1]</sup> 中的质量标准仅有对其性状、鉴别反应和检查作出规定,而无含量测定。迄今为止对该制剂中的剧毒有效成分莨菪碱尚无定量分析的报道。因此对该制剂建立保证质控和用药安全的定量分析方法是本院乃至全军医疗单位急待解决的问题。作者就这一问题进行研究,寻找出准确、灵敏的定量分析法,现报道如下:

### 1 仪器与材料

UV-2501PC 紫外可见分光光度计(日本岛津);电子分析天平;硫酸阿托品(标准品,中国药品

生物制品检验所);复方颠茄合剂(本院制剂);溴甲酚紫(上海试剂二厂);磷酸二氢钠 AR 级(上海试剂二厂);磷酸氢二钠 AR 级(上海新华化工厂);氯化钠(江苏南通勤奋制药厂);氢氧化钠 AR 级(广东汕头西陇化工厂)。

### 2 测定方法与结果

**2.1 计算** 1M 的硫酸阿托品 ( $C_{17}H_{23}NO_3$ )<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 相当于 2M 的莨菪碱,即 1 μg 的硫酸阿托品相当于 0.855 3 μg 的莨菪碱,可用标准曲线计算复方颠茄合剂中莨菪碱的含量<sup>[2]</sup>。

#### 2.2 溶液的配制

**2.2.1 复方颠茄合剂的配制** 50mL 颠茄酊,50mL 复方樟脑酊,5mL 聚山梨酯 80 置于配制桶混合均匀,再缓缓加入适量蒸馏水至 1 000mL,搅拌均匀<sup>[1]</sup>。

作者简介:傅翔(1972-),男,硕士,主管药师。Tel:(0591)22859458, E-mail:fuxiangmai@china.com.

**2.2.2 缓冲液的配制** pH 6.6 磷酸盐缓冲液,按中国药典中的方法配制<sup>[3]</sup>,取磷酸二氢钠 1.74g,磷酸氢二钠 2.7g 与氯化钠 1.7g,加水使溶解成 400mL 即得。

**2.2.3 溴甲酚紫溶液的配制** 将溴甲酚紫与 pH 6.6 的磷酸盐缓冲液配成  $4 \times 10^{-4}$  M 的溶液,加热使溶解,放冷,再用 NaOH 使其 pH 调为 5.8 左右,为防止染料中一些有色杂质被有机溶剂提取而干扰测定,将缓冲液与染料的混合液先以氯仿提取,提取液弃去,除去染料杂质后,即为溴甲酚紫溶液<sup>[4,5]</sup>。

**2.2.4 硫酸阿托品对照品溶液配制** 精密称取在 120℃ 干燥至恒重的硫酸阿托品(莨菪碱的外消旋体)对照品 30mg,置 100mL 容量瓶中用 70% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 30mg/100mL 的对照液;精密量取 10mL 30mg/100mL 的对照液置 100mL 容量中,加水稀释至刻度,得 30μg/mL 的对照液,摇匀备用<sup>[4,5]</sup>。

**2.3 吸光光谱的测定** 精密吸取上述 30mg/100mL 的对照品 0.5mL 和样品溶液 10mL 置于 2 个分液漏斗中,分别加 pH 6.6 磷酸缓冲液 10mL,再加配好的溴甲酚紫溶液 10mL,混匀,加氯仿 10mL,振摇 3min,静置 20min,分层,再分别用 10mL 氯仿萃取 3 次,合并氯仿液,用干燥滤纸过滤氯仿液,再用 0.1N 氢氧化钠溶液 25mL 脱色,取水相稀释 10 倍,置 1cm 比色杯中,用 0.1N 氢氧化钠溶液作空白,在 400~800nm 波长内扫描,结果均在 (589 ± 1) nm 波长处有最大吸收<sup>[4,5]</sup>。

**2.4 标准曲线的制备** 精密吸取上述 30mg/100mL 对照品液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL 分别置于 6 个分液漏斗中,以下按 2.3 项自“加 pH 6.6 缓冲液 10mL,再加配好的溴甲酚紫 10mL……”,用 0.1N 氢氧化钠作空白。”在 (589 ± 1) nm 波长处分别测定其吸光度,结果表明当阿托品浓度在 1.2~7.2μg/mL 范围内具有良好的线性关系。计算得回归方程为  $A = 0.0047x + 0.0095$ ,  $r = 0.9991$ ,见图 1。

**2.5 颠茄酊中莨菪碱的测定** 取不同批号的颠茄酊溶液 0.5mL 置于分液漏斗中,以下分别按 2.4 项方法操作,在 589nm 处测定吸光度,见表 1。

**2.6 样品溶液的稳定性** 取样品溶液,分别于配制后 0、4、8、24、36h 测定在 589nm 处的吸收度值,结果基本不变,说明样品溶液于 2d 内基本稳定。

**2.7 样品的测定**<sup>[6-9]</sup> 精密吸取本院制剂复方颠茄合剂 10mL,上述 30mg/100mL 对照品溶液 0.4mL 和 0.5mL,分别置于分液漏斗,按 2.3 项方法操作,在 (589 ± 1) nm 波长处测吸光度,结果 10mL 复方颠茄合剂吸光度为 0.6466,代入回归方程  $A = 0.0047x + 0.0095$  计算,结果见表 2。其相应的对

照品溶液的平均吸光度分别为 0.5887,0.7231(理论值分别为 0.5735,0.7145)。

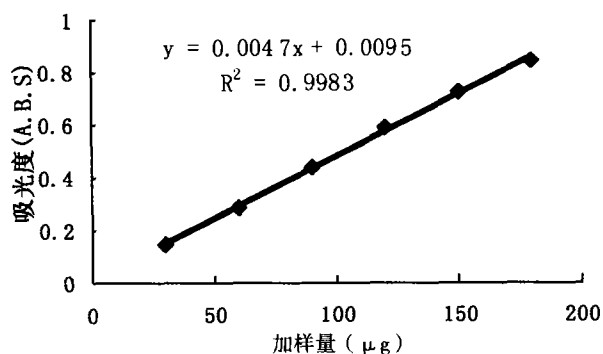


图 1 复方颠茄合剂含量测定标准曲线

表 1 颠茄酊中莨菪碱的测定结果

批号	含量(μg)	平均值(μg)
030304	121.49	
031122	120.20	121.07
040112	121.50	

表 2 复方颠茄合剂中颠茄碱含量测定结果

批号	含量(μg)	平均值(μg)
040307	120.76	
040408	121.07	121.02
040425	121.23	

**2.8 加样回收率测定** 精密吸取已知含量复方颠茄合剂批号 040408 的样品 2mL 4 管,分别加入 1、2、3、4 的上述 30μg/mL 对照品溶液,按 2.3 项方法操作测定,结果见表 3。

表 3 复方颠茄合剂加样回收率测定结果

样品量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
23.84	25.66	49.50	100.00		
23.84	51.31	75.91	101.00	100.02	0.69
23.84	76.97	100.31	99.50		
23.84	102.62	125.96	99.60		

**2.9 精密度试验** 分别精密量取 30mg/100 mL 对照品溶液 0.2、0.4、0.6mL 置于分液漏斗中,按 2.3 项方法操作,在 (589 ± 1) nm 波长处分别测定其吸光度,每天测定 5 次,连续测定 5 次。计算各浓度的日内 RSD 和日间 RSD。结果见表 4。

表 4 精密度试验结果

No.	C(μg/mL)	RSD(%)	
		日内	日间
1	2.40	0.9	1.2
2	4.80	0.5	0.8
3	7.20	0.7	1.0

### 3 讨论

**3.1** 根据药典规定颠茄酊中莨菪总碱(包含东莨菪碱等)的含量为 0.028%~0.032%,其中莨菪碱约占莨菪总碱的 75.93%~86.79%,是莨菪总碱的主要成分,本实验即采用测定复方颠茄合剂中的莨菪碱,根据处方复方颠茄合剂中含 5% 的颠茄酊,则每毫升复方颠茄合剂中含莨菪碱 10.63~13.89 $\mu\text{g}$ 。

**3.2** 复方颠茄合剂中莨菪碱含量测定的难点在于排除制剂中吗啡与樟脑的干扰,我们曾采用了药典中莨菪碱的测定方法,即选用酸性染料溴甲酚绿溶液,在一定 pH 中使其与莨菪碱(或阿托品)定量结合成有色络合物,用氯仿提取后,在其最大吸收波长 420nm 处测定其吸光度值,但实验结果表明标准品阿托品及吗啡和樟脑在此条件下均有最大吸收,且三者扫描图谱基本平行,无法用二阶导数法排除二者干扰<sup>[6-9]</sup>。

**3.3** 经过进一步探索,我们发现采用酸性染料比色法在 pH 6.6 磷酸缓冲液中莨菪碱与酸性染料溴甲酚紫能够进行选择性的络合,形成有色络合物可被氯仿提取,氯仿层经碱脱色,水相用分光光度法在 (589 $\pm$ 1)nm 波长处具有最大吸收,且溶液浓度在 1.2~7.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$  时呈线性关系,符合比尔定律。并且,经实验表明,在此条件下,东莨菪碱、阿托品以及吗啡对反应无干扰。其原因经分析可能为溴甲酚紫与氮原子结合形成络合物,东莨菪碱中氧环的氧原子与氮原子形成 N $\rightarrow$ O 键,从而阻碍氮原子与溴甲酚紫形成络合物,此外吗啡分子中酚羟基和叔氮原子为两性物质, pKa = 9.795, pKb = 6.125, 在 pH 6.6 的条件下成盐溶解,形成的络合物分布在水相。

**3.4** 本法测定结果准确度的关键在于溶液的 pH,一般中性、酸性及弱碱性的物质对分析无干扰;强酸由于可改变染料溶液或缓冲液的 pH 而有干扰,具有较高缓冲指数的缓冲液,可以消除这种干扰。根

据溴甲酚紫的 pKa 为 6.3,缓冲液 pH 可控制在 5.8~6.8,我们的经验是缓冲溶液 pH 值 6.6 为宜。此外,由于复方颠茄合剂中含有苯甲酸 pH 为 4.6,测定时应将其调到 pH = 6。如不预先调节 pH,直接测定的话,回收率可高达 110.2%~113.0%(8 次测定平均值),这是因为 pH 过低染料分配到氯仿层所致,而调节 pH 后平均回收率为 100.02%。

**3.5** 溴甲酚紫溶液浓度以  $4 \times 10^{-4} \text{M}$  为宜,浓度过高,氯仿振荡提取络合物时则易形成难于破坏的乳化层。用氯仿提取时,静置时间要在 20min 以上,使氯仿与水层严格分开,否则,微量的水分可使氯仿层发生浑浊,而且带入水相中的过量染料,会影响测定结果;其次,氯仿萃取过程中应防止氯仿挥发,否则会使测定结果偏高。

**3.6** 本法采用酸性染料比色法测定了复方颠茄合剂中莨菪碱的含量,方法简便,结果准确,灵敏度高,重现性好,为完善制剂的质量标准提供了科学依据。

#### 参考文献:

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[S]. 北京:人民军医出版社,1993:92,33.
- [2] 陈耀祖. 有机分析[M]. 北京:高等教育出版社,1981:544~574.
- [3] 中国药典 2000 版. 二部[S]. 2000: 874~875.
- [4] 南京药学院药物分析教研室编著. 药物分析[M]. 江苏:科学技术出版社,1981:578~586.
- [5] 安登魁,张正行,盛龙生. 药物分析[M]. 济南:济南出版社,1992:1200~1206.
- [6] 李隆康,雷灼雨. 酸性染料比色法测定颠茄合剂含量[J]. 中国医院药学杂志,1999,16(1):25.
- [7] 梁美凤,陈国锐,陈玉萍. 酸性染料比色法考察苏酊合剂的稳定性[J]. 海峡药学,1997,9(1):20.
- [8] 邓朝晖. 酸性染料比色法测定复方硫酸阿托品滴眼液中硫酸阿托品含量[J]. 军队药学,2000,10(1):30.
- [9] 罗凤琴,黄萍,赵春景. 酸性染料比色法测定盐酸丁卡因滴眼液的含量[J]. 泸州医学院学报,2003,26(1):31.

收稿日期:2006-01-13

## HPLC 法同时测定复方酮康唑凝胶剂中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量

张倩<sup>1</sup>,宋洪涛<sup>2</sup>,陈雅婷<sup>1</sup>,康鲁平<sup>2</sup>(1. 福建医科大学药学院,福建 福州 350004;2. 南京军区福州总医院药剂科,福建 福州 350025)

**摘要** 目的:建立复方酮康唑凝胶剂中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱为 Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 柱,甲醇-0.2% 三乙胺(醋酸调 pH 至 6.9, V:V=75:25)为流动相,流速 1.0 mL/min,检测波长 239nm。结果:酮康唑在 10.08~

作者简介:张倩(1972-),女,硕士,工程师。Tel: 13850153200。  
E-mail: sohoto\_sohu.com