

HPLC 同时测定腰痛宁贴片中的土的宁和马钱子碱

王亚静

(天津中医药大学现代中药发现与制剂技术教育部工程研究中心 天津市中药化学与分析重点实验室,天津 300193)

摘要: **目的** 采用 RP-HPLC 法同时测定腰痛宁贴片中土的宁和马钱子碱的含量。**方法** 采用 Inertsil C₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(100:480:35,三乙胺调 pH3.2),流速 1.0 mL•min⁻¹,检测波长 254 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。**结果** 土的宁和马钱子碱的线性范围分别为 2.0 ~ 10.0 μg(*r*=0.9998)、1.8 ~ 9.0 μg(*r*=0.9997),平均回收率分别为 98.9%(*RSD* = 1.19%)、100.7%(*RSD* = 1.49%),3 批腰痛宁贴片中土的宁和马钱子碱的平均含量分别为 5.15、4.03 mg。**结论** 所建方法准确可靠,可用于腰痛宁贴片中土的宁和马钱子碱的含量测定。

关键词: 腰痛宁贴片; 高效液相色谱法; 土的宁; 马钱子碱; 含量测定

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011) 01-0073-02

Simultaneous determination of strychnine and brucine in Yaotongning patches by HPLC

WANG YA-jing

(Engineering Research Center of Modern Chinese Medicine Discovery and Preparation Technique, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of TCM Chemistry and Analysis, Tianjin University of TCM, Tianjin, 300193 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an RP-HPLC method for simultaneous determination of strychnine and brucine in Yaotongning patches. **METHODS** The samples were separated on a Inertsil C₈(250 mm × 4.6 mm,5 μm) at 30 ℃ and detected at 254 nm. The mobile phase was consisted of methanol-water-acetic acid (100:480:35, adjusted to pH3.2 with triethylamine) with flow rate of 1.0 mL•min⁻¹, and the injection volume of samples was 10 μL. **RESULTS** The results indicated that the two compounds were basically isolated. The linear ranges of strychnine and brucine were 2.0-10.0 μg(*r*=0.9998), 1.8-9.0 μg(*r*=0.9997), respectively. The average recoveries were 98.9%(*RSD* = 1.19%), 100.7%(*RSD* = 1.49%), respectively. The average contents of strychnine and brucine in a piece of Yaotongning patches were 5.15 mg and 4.03 mg, respectively. **CONCLUSION** The method is sensitive and accurate, and can be used to control the quality of Yaotongning patches.

Key words: Yaotongning Patches; Strychnine; Brucine; RP-HPLC; Determination

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011) 01-0073-02

腰痛宁贴片是在腰痛宁口服制剂基础上研制的外用制剂,由马钱子等十味中药组成,为临床常用中成药,具有消肿止痛、疏散寒邪、通经活络的作用,可治疗腰椎间盘突出、腰椎增生、坐骨神经痛、腰肌纤维炎、慢性风湿性关节炎等疾病^[1]。马钱子中土的宁和马钱子碱既是主要药效成分,又是有毒成分,因此,严格控制其含量十分重要。现采用 RP-HPLC 法同时测定了制剂中马钱子碱和土的宁的含量,方法快速、简便、精密度和准确度高。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10AT 高效液相色谱系统(日本岛津)。马钱子碱、土的宁对照品(中国药品生物制品检定所);腰痛宁贴片(自制);甲醇为色谱纯;水为超纯水;其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 采用 Inertsil C₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(100:480:35,三乙胺调 pH3.2),流速 1.0 mL•min⁻¹,检测波长 254 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL^[2-4]。在此条件下,样品中土的宁和马钱子碱的 *t_R* 分别为 16.15、18.09 min,两峰及其相邻峰的分度大于 1.5。色谱图见图 1。

1.2.2 溶液的配制 取土的宁和马钱子碱适量,精密称定,加流动相制成含土的宁、马钱子碱分别为 5.0、4.5 μg•mL⁻¹ 的对照品溶液。取腰痛宁贴片 5 片,除去保护层,剪碎,精密称定,分别取碎片适量(约半片量),置磨口三角瓶中,加氯仿 20 mL,浓氨水 1.0 mL,密塞,超声处理 15 min。提取液移入分液漏斗中,用 30 mL 氯仿分次洗涤三角瓶,洗液并入分液漏斗中,用 0.5 mol•L⁻¹ H₂SO₄ 提取(10 mL ×

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAI47B00)

作者简介: 王亚静,女,硕士,副研究员,从事制剂新剂型的研究与开发工作。Email: yajing022@163.com

5),合并硫酸液,加浓氨试液调节 pH9~10,用氯仿提取(10 mL×5),合并氯仿液,蒸干,残渣加流动相溶解,转移至 50 mL 量瓶中定容。精密量取 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相定容,即得供试品溶液。除马钱子外,按处方比例称取其他各药材,按工艺制成无马钱子的制剂,按供试品溶液同法制成阴性对照液。

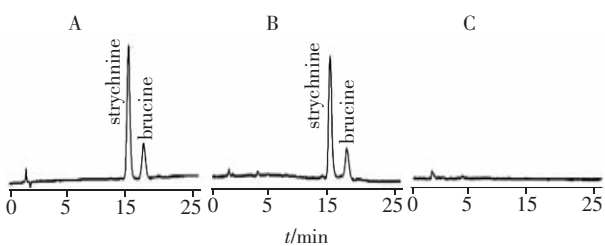


图 1 混合对照品(A)、供试品(B)和阴性对照(C)溶液的色谱图
Fig 1 Chromatograms of control solution(A), sample solution(B) and negative sample solution(C)

1.2.3 精密度试验 取同一批供试溶液,连续进样 6 次,记录峰面积。计算土的宁、马钱子碱峰面积的 RSD 分别为 0.87%、1.02%。表明进样精密度良好。

1.2.4 线性关系考察 精密量取对照品贮备液(土的宁 100.2 μg·mL⁻¹、马钱子碱 90.45 μg·mL⁻¹) 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,分别置 25 mL 量瓶中,加流动相定容,分别进样 10 μL。以峰面积为纵坐标、进样量(μg)为横坐标进行线性回归,回归方程为: $Y_{\text{土的宁}} = 4.02 \times 10^4 X - 1.29 \times 10^3$ ($r = 0.9998$), $Y_{\text{马钱子碱}} = 1.34 \times 10^4 X - 336$ ($r = 0.9997$)。表明土的宁、马钱子碱的进样量 2.0~10.0 μg、1.8~9.0 μg 与峰面积的线性关系良好。

1.2.5 专属性试验 取按“1.2.2”项下方法制备的缺马钱子的阴性对照液,按“1.2.1”项下色谱条件测定。处方中其他成分不干扰测定(图 1C)。

1.2.6 重复性试验 取同一批供试品,按“1.2.2”项下方法分别制备 6 份供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积。外标法分别计算土的宁、马钱子碱的含量,其 RSD 分别为 1.91%、2.27% ($n = 6$)。表明方法的精密度良好。

1.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 时进样测定,记录峰面积。计算土的宁和马钱子碱峰面积的 RSD 分别为 0.73%、0.89%。表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

1.2.8 加样回收率 称取已知含量的供试品 9 份,每份约相当于供试品取样量的一半,计算供试品中土的宁和马钱子碱的含量。精密加入适量土的宁和马钱子碱对照品,按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样,测定供试品中土的宁和马钱子碱的含量,计算回收率(表 1)。

表 1 土的宁和马钱子碱加样回收率的试验结果(mg, n=9)
Table 1 Recovery test of strychnine and brucine(mg, n=9)

Components	Original	Added	Detected	Recovery/%	$\bar{X}/\%$	RSD/%
Strychnine	1.344	0.4696	1.807	98.59	98.93	1.19
	1.342	0.4696	1.806	98.81		
	1.342	0.4696	1.799	97.32		
	1.345	0.9392	2.283	99.87		
	1.343	0.9392	2.273	99.02		
	1.341	0.9392	2.285	100.5		
	1.344	1.878	3.170	97.23		
	1.347	1.878	3.232	100.4		
	1.343	1.878	3.196	98.67		
Brucine	1.053	0.4233	1.473	99.22	100.7	1.49
	1.050	0.4233	1.483	102.3		
	1.051	0.4233	1.489	103.5		
	1.054	0.8466	1.888	98.51		
	1.053	0.8466	1.901	100.2		
	1.051	0.8466	1.902	100.5		
	1.053	1.6932	2.760	100.8		
	1.056	1.6932	2.771	101.3		
	1.053	1.6932	2.750	100.2		

1.2.9 样品的测定 取 3 批供试品,按“1.2.2”“1.2.1”项下方法制备供试液并测定土的宁和马钱子碱的含量。3 批腰痛宁贴片中土的宁和马钱子碱的含量分别为每片 4.89、5.32、5.24 mg 和 3.81、4.25、4.04 mg,平均含量分别为每片 5.15、4.03 mg。

2 讨论

腰痛宁的提取可使用甲醇氨性溶液超声 40 min 及氯仿氨性溶液放置过夜的方法^[3-5],曾采用氯仿氨性溶液超声提取,结果以超声 15 min 即可提取完全。分别采用迪马公司的 C₁₈、C₈ 分析柱,试验了甲醇-水-冰醋酸的不同配比以及用三乙胺调 pH3.0~4.5 的溶液为流动相进行实验。以采用 C₈ 柱、甲醇-水-冰醋酸(100:480:35,用三乙胺调 pH3.2)为流动相时的分离条件最佳,样品中土的宁与马钱子碱的峰形较好,与其他组分均可达到基线分离,该色谱条件可用于同时测定腰痛宁贴片中土的宁与马钱子碱的含量。

参考文献:

[1] 计福全. 腰痛宁胶囊临床疗效及特点[J]. 中草药,1997,28(2):125-125.
[2] 陈艳,贺英菊,罗巍伟,等. HPLC 测定平消软胶囊中土的宁的含量[J]. 华西药 学 杂 志,2005,20(3):255-256.
[3] 王豫辉,胡海廷,牛家萍,等. HPLC 测定腰痛宁胶囊中土的宁的含量[J]. 中国药 学 杂 志,1998,33(11):683-684.
[4] 向寰,沈莲秀,何道惠. RP-HPLC 测定乳香伤筋搽剂中土的宁的含量[J]. 华西药 学 杂 志,2002,17(4):288-289.
[5] 张保华,刘铁钢,张喜情. 腰痛宁胶囊中土的宁和布鲁生的含量测定方法[J]. 中 成 药,1991,13(7):12-13.

收稿日期:2010-04-10