

补筋片的质量控制研究

盛蓉, 陈卓, 谈静 (成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

摘要: 目的 建立补筋片质量控制方法。方法 采用薄层色谱法鉴别补筋片中丹参、制何首乌; 采用高效液相色谱法测定士的宁、马钱子碱含量。结果 薄层色谱法可以很好的鉴别丹参、制何首乌; 士的宁在 0.133 8~2.00 7 μg 间线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 98.98%(RSD=2.61%); 马钱子碱在 0.129 6~1.944 μg 间线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 100%(RSD=2.11%)。结论 该法操作简便、准确, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 丹参; 制何首乌; 士的宁; 马钱子碱; 高效液相色谱法; 补筋片

中图分类号: R943.3 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2009)07-0593-04

Study on Quality Control of Bujin Tablets

SHENG Rong, CHEN Zhuo, TAN Jing (*The Hospital Affiliated to Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quality control method for Bujin tablets. **METHODS** The Radix et Rhizoma salviae miltiorrhizae and Radix polygoni multiflori praeparatacum succo glycines sotae in Bujin tablets were identified by TLC. The strychnine and brucine were determined by HPLC. **RESULTS** The Radix et Rhizoma salviae miltiorrhizae and Radix Polygoni Multiflori Praeparatacum Succo Glycines Sotae could be identified by TLC. Strychnie had a good linear relationship at the range of 0.133 8~2.007 μg ($r=0.999\ 9$), and the average recovery was 98.98% (RSD = 2.61%). Brucine had a good linear relationship at the range of 0.129 6~1.994 μg ($r=0.999\ 8$), and the average recovery was 100% (RSD= 2.11%). **CONCLUSION** This method is simple, accurate and suitable for the quality control of Bujin tablets.

KEY WORDS: Radix et Rhizoma salviae miltiorrhizae; Radix polygoni multiflori praeparatacum succo glycines sotae; strychnine; brucine; HPLC; Bujin tablets

补筋片是我院临床沿用 20 余年的医院自制中药片剂, 由马钱子粉、制何首乌、丹参等组成, 具有补养肝肾, 益气养血, 活络止痛, 健骨壮筋的功效, 用于腰肌劳损、骨折伤筋后期, 及四肢伤筋、

腰椎间盘突出、颈椎病等。为有效控制补筋片质量, 采用薄层色谱法^[1]鉴别方中丹参和制何首乌, 采用高效液相色谱法^[1-4]测定制剂中士的宁和马钱子碱含量, 取得满意效果。

作者简介: 盛蓉, 女, 副主任药师 Tel: (028)81997969 E-mail:sheng6710@126.com

1 仪器与试剂

HP-1100 型高效液相色谱仪, DAD 检测器; BH2110 型电子天平(十万分之一,德国塞多利斯)。

对照品土的宁、马钱子碱、丹参酮II A、2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D 葡萄糖苷(供含量测定用, 批号: 110705-200306, 0706-200004, 11766-200417, 110844-200505, 中国药品生物制品检定所), 丹参、何首乌对照药材(批号: 120923-200509, 934-9403, 中国药品生物制品检定所); 补筋片(本院制剂室提供, 批号: 051206, 060125, 060330); 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 薄层色谱用硅胶 G(青岛海洋化工厂)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 丹参 取本品 6 g, 研细, 加乙醚 30 mL, 振荡, 放置 1 h, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取缺丹参的补筋片 6 g, 同法制成阴性对照溶液。另取丹参对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。再取丹参酮II A 对照品, 加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录VI B)试验。吸取上述 4 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(19:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的暗红色斑点, 与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的 2 个斑点, 阴性对照无干扰。

2.1.2 制何首乌 取本品 6 g, 研细, 加 30 mL 水溶解, 用乙醚提取 2 次, 每次 20 mL, 弃去乙醚液, 水层用水饱和正丁醇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 水浴挥干, 残渣加甲醇 2 mL 溶解, 作为供试品溶液。取缺制何首乌的补筋片 6 g, 同法制成阴性对照溶液。另取何首乌对照药材 0.25 g,

加乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 2 mL, 作为对照药材溶液。再取 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D 葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录VI B)试验, 吸取上述 4 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一以 0.2% CMC-Na 为黏合剂的硅胶 H 薄层板上, 以 S-1 甲苯-乙醇(2:1); S-2 甲苯-乙醇(4:1)(第 1 次展开 3.5 cm, 第 2 次展开 7 cm)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以磷钼酸硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的蓝色条斑, 与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的 1 个斑点, 阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: 依利特 C₁₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m); 以乙腈-0.01 mol \cdot L⁻¹ 庚烷磺酸钠与 0.02 mol \cdot L⁻¹ 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8 \pm 0.1)(21:79)为流动相; 检测波长 260 nm, 柱温 35 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ L, 流速 1 mL \cdot min⁻¹。在此色谱条件下, 供试品色谱中土的宁、马钱子碱与其他成分得到较好分离, 其色谱峰保留时间与相应对照品一致, 见图 1, 理论板数按土的宁峰计算应不低于 3 000。

2.2.2 阴性干扰考察 按处方比例, 配制不含马钱子粉的片剂, 按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。由高效液相色谱图可知, 在与土的宁和马钱子碱对照品溶液相同的保留时间, 阴性样品溶液无峰, 说明在此条件下, 阴性样品溶液无干扰, 见图 1。

2.2.3 对照品溶液的制备 分别精密称取土的宁对照品 6.69 mg, 马钱子碱对照品 6.48 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加三氯甲烷 10 mL 使溶解, 摇匀, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 中含土的宁 0.133 8 mg、含马钱子碱 0.129 6 mg)。

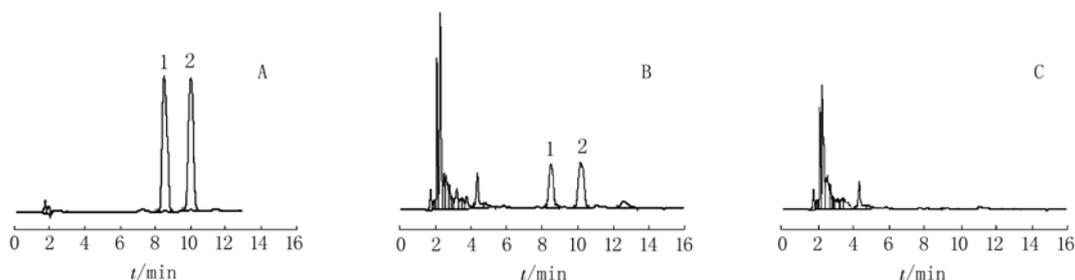


图 1 马钱子碱、土的宁的高效液相色谱图

A-对照; B-样品; C-阴性样品; 1-马钱子碱; 2-土的宁

Fig 1 HPLC of brucine and strychnine

A-reference substance; B-sample; C-negative sample; 1-brucine; 2-strychnine

2.2.4 供试品溶液的制备 取本品 50 片, 研细, 取约 7 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 $1.075 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠试液 3 mL, 混匀, 放置 30 min, 精密加入三氯甲烷 20 mL, 密塞, 称定重量, 置水浴中回流提取 1.5 h, 放冷, 再称定重量, 用三氯甲烷补足减失的重量, 摇匀, 分取三氯甲烷提取液, 用铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取士的宁、马钱子碱对照品溶液 1、3、5、10、15 μL , 分别进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以进样量为横坐标, 峰面积分值为纵坐标, 计算回归方程, 绘制标准曲线。士的宁的回归方程为 $Y=1\ 831.6X-1.296\ 4$, $r=0.999\ 9$; 马钱子碱的回归方程为 $Y=1\ 463.2\ X+17.657$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明, 士的宁在 $0.133\ 8\sim 2.007\ \mu\text{g}$ 、马钱子碱在 $0.129\ 6\sim 1.944\ \mu\text{g}$ 内呈良好的线性关系。

2.2.6 仪器精密度试验 精密吸取士的宁、马钱子碱对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 测定每次进样

表 1 回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

编号	样品中含量/mg		加入对照品量/mg		实测值/mg		回收率/%		RSD/%	
	士的宁	马钱子碱	士的宁	马钱子碱	士的宁	马钱子碱	士的宁	马钱子碱	士的宁	马钱子碱
1	0.870 5	0.777 3	0.802 8	0.777 6	1.681 1	1.565 3	100.97	101.34		
2	0.860 1	0.768 0	0.802 8	0.777 6	1.625 5	1.531 3	95.34	98.16		
3	0.858 7	0.766 8	0.802 8	0.777 6	1.654 4	1.543 3	99.12	99.86	2.61	2.11
4	0.901 5	0.805 0	0.802 8	0.777 6	1.693 3	1.561 1	98.63	97.24		
5	0.893 9	0.798 2	0.802 8	0.777 6	1.674 5	1.578 1	97.23	100.30		
6	0.872 6	0.779 2	0.802 8	0.777 6	1.696 0	1.580 7	102.57	103.07		

结果士的宁平均回收率为 98.98%, RSD 值为 2.61%; 马钱子碱平均回收率为 100%, RSD 值为 2.11%, 表明该法回收率良好。

2.2.10 样品测定 取本品内容物约 7 g, 共 3 批, 每批 2 份, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 余下同“2.2.4”项下制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 μL , 按上述色谱条件测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定($n=2$)

Tab 2 The sample of content determination($n=2$)

批号	样品中含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	
	士的宁	马钱子碱
051206	0.288 3	0.258 1
060125	0.293 6	0.267 3
060330	0.297 7	0.265 4

峰面积值, 结果士的宁的峰面积 $\text{RSD}=0.47\%(n=6)$, 马钱子碱的峰面积 $\text{RSD}=0.39\%(n=6)$, 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取供试品溶液于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 分别进样 10 μL , 测定样品中士的宁、马钱子碱的峰面积值, 结果士的宁的峰面积 $\text{RSD}=1.03\%(n=6)$, 马钱子碱的峰面积的 $\text{RSD}=1.17\%(n=6)$, 表明供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 取同一样品 5 份, 按前述方法制备供试品溶液, 分别进样 10 μL , 测定峰面积值, 计算含量及相对标准偏差, 结果士的宁含量的 $\text{RSD}=1.26\%(n=5)$, 马钱子碱含量的 $\text{RSD}=1.22\%(n=5)$, 表明重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品约 3 g (士的宁含量 $0.288\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、马钱子碱含量 $0.257\ 6\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), 精密称定, 共 6 份, 分别精密加入对照品溶液 6 mL (士的宁 $0.133\ 8\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、马钱子碱 $0.129\ 6\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 按“2.2.4”项下制备供试品溶液, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

3 讨论

马钱子粉为方中毒性药物, 其所含的士的宁、马钱子碱既是有效成分, 又是毒性成分, 为有效控制方中士的宁、马钱子碱的含量, 保证临床用药的安全有效, 故采用高效液相色谱法测定方中士的宁、马钱子碱的含量, 对其质量进行控制。

在供试品的制备中, 曾考察了超声提取与回流提取, 结果以回流提取效果较好。在回流提取中, 分别考察了 0.5, 1.0, 1.5, 2, 2.5 h 回流时间对士的宁、马钱子碱含量的影响, 结果 1.5 h 后样品中的士的宁、马钱子碱含量无差异, 故确定提取时间为 1.5 h。

在含量测定中, 分别考察了柱温(25, 30, 35, 40 $^{\circ}\text{C}$)、流动相比(21:79, 22:78, 23:77)对色谱图的影响, 结果柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$ 、流动相为 21:79 时分离较佳。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol I (中国药典2005年版.一部)[S]. 2005: 34, 52, 122, XV B97.
- [2] LI Q R, LI X C, ZHANG P. Determination of strychnine in Tiaogu tablet by HPLC [J]. Chin J Hosp Pharma (中国医院药学杂志), 2006, 26(11): 1372-1373.
- [3] PAN G L, SUN G B. Determination of strychnine in Wantong Jingu tablets by HPLC [J]. Jiangsu Pharm Clin Res (江苏药学与临床研究), 2006, 6(14): 396-398.
- [4] TIAN H, LI Y H, ZHU J C. Determination of the contents of strychnine and brucine in compound fengshi pills with HPLC [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2005, 16(9): 859-860.

收稿日期: 2008-09-16