

## HPLC 法测定马钱子散中土的宁

夏丽文, 刘巍巍

哈药集团制药六厂, 黑龙江 哈尔滨 150056

**摘要:**目的 建立马钱子散中土的宁的高效液相色谱测定方法。方法 采用 Akasil-C<sub>18</sub> 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (25:75) 为流动相, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm。结果 土的宁进样量在 0.48~2.4 μg 与峰面积线性关系良好 ( $r=0.9995$ ), 平均回收率为 98.9%, RSD 为 2.2% ( $n=6$ )。结论 所建立的方法专属性强、准确、快速, 适用于马钱子散中土的宁的测定。

**关键词:** 马钱子散; 土的宁; 高效液相色谱; 质量控制

中图分类号: R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)03-0232-02

## Determination of strychnine in Maqianzi Powder by HPLC

XIA Li-wen, LIU Wei-wei

Harbin Pharmaceutical Group Sixth Pharm Factory, Harbin 150056, China

**Abstract: Objective** To develop a reversed-phase HPLC method for analyzing the content of strychnine in Maqianzi Powder.

**Methods** The HPLC system comprised of an Akasil-C<sub>18</sub> column (200 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was a mixture of methanol and 0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (25:75) and delivered at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was done at 254 nm. **Results** The calibration curve was found to be linear in injection amount range of 0.48—2.4 μg ( $r=0.9995$ ). The mean recovery of strychnine was 98.9% (RSD = 2.2%,  $n=6$ ). **Conclusion** These results indicate that the HPLC method could be suitable for monitoring of strychnine in Maqianzi Powder since it is selective, accurate, and rapid.

**Key words:** Maqianzi Powder; strychnine; HPLC; quality control

马钱子散是《中国药典》2010年版一部收载品种, 由马钱子、地龙组成, 具有祛风湿、通经络的功能, 用于治疗风湿闭阻所致痹病。方中马钱子采用沙烫方法制成的炮制品, 降低了毒性成分土的宁的量<sup>[1]</sup>, 但土的宁是马钱子的有效成分<sup>[2-3]</sup>, 因此须制定本品中土的宁的限度, 以保证本品的安全性和有效性。《中国药典》2010年版一部采用薄层色谱法测定本品中的土的宁, 该方法灵敏度较差, 难以准确控制土的宁的量。土的宁的 HPLC 法的测定已有少量报道<sup>[4]</sup>。本实验采用 HPLC 法建立马钱子散中土的宁的测定方法, 为更准确地控制本品的质量提供了可行的方法。

### 1 仪器与材料

LC—20A 高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD—20A 二极管阵列检测器, MA110 型电子分析天平 (上海第二天平仪器厂)。土的宁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 110705-200306, 供定量测定用)。甲醇 (DIMA 公司) 为色谱纯; 水为

Milli-Q 超纯水; 其他试剂均为分析纯。马钱子散, 按《中国药典》2010年版一部马钱子项下方法自制。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

Akasil-C<sub>18</sub> 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (用 10% 磷酸调 pH 2.5) (25:75) 为流动相; 检测波长 254 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃。

#### 2.2 对照品溶液的制备

称取土的宁对照品适量, 用甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 制得质量浓度为 0.12 mg/mL 的土的宁对照品溶液。

#### 2.3 供试品溶液的制备

取本品粉末约 0.6 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加氢氧化钠试液 (4.3→100) 3 mL, 混匀, 放置 30 min, 精密加三氯甲烷 20 mL, 密塞, 称定质量, 置水浴中回流提取 2 h, 放冷, 再称定质量, 用三氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 用铺有少量无水

收稿日期: 2010-10-28

作者简介: 夏丽文 (1972—), 女, 辽宁辽中县人, 高级工程师, 执业药师, 研究方向为药物制剂工艺的研究和质量标准的制定。

Tel: 13936003041 E-mail: xia\_liwen@126.com

硫酸钠的滤纸滤过, 弃去初滤液, 取续滤液 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

## 2.4 阴性对照溶液的制备

按照马钱子散处方, 去掉制马钱子, 即取地龙适量, 粉碎成细粉, 制得阴性对照制剂。按供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

## 2.5 系统适应性考察

分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 见图 1。供试品溶液色谱中士的宁峰分离度大于 1.5, 阴性液色谱中士的宁峰相应位置无干扰, 士的宁理论板数大于 2 000。

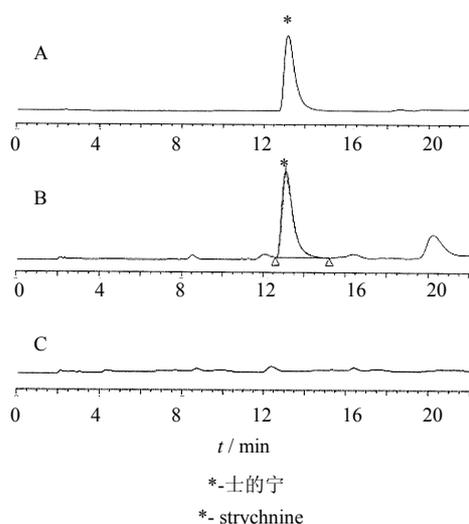


图 1 士的宁对照品 (A)、马钱子散 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of strychnine reference substance (A), Maqianzi Powder (B), and negative sample (C)

## 2.6 线性关系考察

精密吸取士的宁对照品溶液 4、8、12、16、20  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪。以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归, 结果回归方程为  $Y = 3\,036\,939 X - 195\,725$ ,  $r = 0.999\,5$ , 表明士的宁在 0.48~2.4  $\mu$ g 线性关系良好。

## 2.7 精密度试验

取批号为 091001 的供试品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10  $\mu$ L。结果士的宁峰面积 RSD 为 1.2%。

## 2.8 重现性试验

取批号为 091001 的样品, 平行制备 6 份供试品

溶液, 测定士的宁, 结果士的宁平均质量分数为 13.21 mg/g, RSD 为 1.54%。

## 2.9 稳定性试验

取批号为 091001 的样品, 制备供试品溶液, 在 0、1、2、4、8、12 h 分别进样, 结果士的宁峰面积 RSD 为 0.9%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

## 2.10 回收率试验

取批号为 091001 的样品, 分别称取 6 份, 每份 0.3 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 分别精密加入 0.547 4 mg/mL 士的宁对照品贮备液 7.2 mL 制备供试品溶液, 进样 10  $\mu$ L, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 98.9%, RSD 值为 2.2%。

## 2.11 样品测定

取 3 批马钱子散, 每批 2 份, 制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L, 测定, 以外标法计算样品中士的宁的量, 结果见表 1。

表 1 马钱子散中士的宁的测定 ( $n=2$ )

Table 1 Determination of strychnine in Maqianzi Powder ( $n=2$ )

批号	士的宁/(mg·g <sup>-1</sup> )
091001	13.21
091002	12.71
091003	13.42

## 3 讨论

已有文献报道<sup>[5]</sup>采用 HPLC 法测定马钱子散中士的宁, 但流动相中添加庚烷磺酸钠作为离子对试剂, 价格昂贵, 成本增加, 且供试品溶液制备方法中应用了反复液-液萃取的方法, 操作繁琐。本实验所采用的流动相中不添加庚烷磺酸钠, 仅应用磷酸二氢钾缓冲液 (pH 2.5) 便可实现士的宁的有效分离, 从而降低了成本, 且供试品溶液制备方法不用液液萃取, 操作简便, 重现性好。

## 参考文献

- [1] 王丹丹, 李俊松, 蔡宝昌. 马钱子的炮制及其现代研究概况 [J]. 河南中医, 2008, 28(10): 97-99.
- [2] 房丹, 刘维, 刘晓亚, 等. 马钱子药理学研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(7): 1018-1019.
- [3] 过振华, 马红梅, 张伯礼. 马钱子药理毒理研究回顾及安全性研究 [J]. 中西医结合学报, 2008, 6(6): 645-649.
- [4] 傅军, 梁基智, 梁从庆. 马黄酊中马钱子碱和士的宁的 HPLC 测定 [J]. 中草药, 2006, 37(5): 711-713.
- [5] 区门秀, 高玉仪. 高效液相色谱法测定马钱子散中士的宁含量 [J]. 中国实用医药, 2008, 3(16): 130-131.