

反相高效液相色谱法测定丁公藤注射液中东莨菪内酯含量

广西医学院附院(南宁530027) 李梅* 周燕文 杨正鸿 赵素荣
广西药品检验所 陆敏仪 卢勇** 章麟**

摘要 报道了用反相高效液相色谱法测定丁公藤注射液中东莨菪内酯(TSCO)含量的方法。色谱柱:岛津CLC-ODS柱(5 μ m);流动相:甲醇-水-冰醋酸(38:62:0.19);流速:0.9ml/min;检测波长:310nm;柱温:50 $^{\circ}$ C;内标:丙酮。在0.4~16 μ g范围内线性良好, $r=1.0000$ 。平均回收率为 $97.71\pm0.99\%$ ($P=0.05$, $CV=1.53\%$, $n=12$),稳定性、重现性均较好,可作为丁公藤注射液的质量控制手段之一。

关键词 丁公藤注射液 东莨菪内酯(scopoletin) HPLC

丁公藤注射液具有发汗、驱风、消肿、镇痛作用,临床用于治疗急、慢性风湿性关节炎及类风湿性关节炎、坐骨神经痛,辅治腰肌劳损、腰椎炎、外伤性关节炎等疾病。其主含东莨菪内酯、东莨菪甙,两者被认为是丁公藤中抗风湿的有效成分,并且,药理实验表明两者均具有一定的镇痛、抗炎、祛痰、平喘作用^[1~3]。已知东莨菪内酯的含量测定方法有紫外分光光度法^[2]、比色法^[4]、薄层层析-紫外分光法^[5]、薄层光密度法^[6]、荧光法^[7]、气相色谱法^[8]等,本文建立了用反相HPLC法测定丁公藤注射液中东莨菪内酯含量的方法,为其制剂质量控制提供一个简便、快速、准确的测定方法。

1 仪器与试剂

仪器:日本岛津LC-6A高效液相色谱仪;CR4-AX数据处理机;LC-6A泵;SPD-6A紫外检测器;微量注射器:50 μ l。长城286计算机。

试剂均为分析纯级(AR)。

对照品:东莨菪内酯(中国药品生物制品检定所供。批号911130)

样品:详见表。

2 色谱条件

2.1 色谱柱:日本岛津CLC-ODS(6 $\times$ 150mm,5 μ m),保护柱:日本岛津CLC-ODS(4 $\times$ 10mm,5 μ m)。

2.2 流动相的选择:先用正交试验方差分析的计算机程序粗选出流动相的条件,然后用改进单纯形法精选出流动相的最佳条件为:甲醇-水-冰醋酸(38:62:0.19),流速=0.9ml/min,柱温=50 $^{\circ}$ C;检测波长310nm;内标:丙酮;AUFS:0.02;记录仪衰减4;纸速4mm/min;进样量20 μ l。

3 对照品和供试品溶液的制备

3.1 对照品贮备溶液的制备:精密称取东莨菪内酯对照品25mg置25ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为东莨菪内酯对照品贮备溶液,备用。

3.2 对照品溶液的制备:精密吸取东莨菪内酯对照品贮备溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、4.0、8.0ml,分置10ml量瓶中,各加丙酮1.0ml,各用甲醇稀释至刻度,摇匀,各配成20、40、60、80、100、200、400、800 μ g/ml浓度,作为东莨菪内酯对照品溶液,密闭、

* Address: Li Mei, The Affiliated Hospital of Guangxi Medical College, Nanning

** 桂林医学院药系92届实习生

避光、冷藏、备用。

3.3 供试品溶液的制备：每批注射液各取5支，分别混匀，精密吸取0.5ml置具塞试管中，加盐酸2ml、水7ml，混匀，置水浴中水解3h，取出放冷，移置分液漏斗中，试管用水洗涤3次，每次2ml，合并水液，加氯化钠2g使溶解，用氯仿分次振摇提取4次（15，10，10，10ml），合并氯仿液，加无水硫酸钠1g，振摇5min，静置1h以上，氯仿置水浴上挥干，残渣加甲醇溶解，移入10ml量瓶中，精密加入1ml丙酮，用甲醇稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。

4 线性试验

取上述各东莨菪内酯对照品溶液分别进样，结果，在0.4~16μg范围内，东莨菪内酯峰高与其含量线性良好，回归方程 $Y(\mu g) = 73.3738X \pm 449.1268$ ， $r = 1.0000$ 。

5 系统适用性

取上述东莨菪内酯对照品溶液（40μg/ml、60μg/ml、80μg/ml），各进样5次，计算理论板数和分离度，结果，理论板数按东莨菪内酯峰计算，不得低于1960（ $P = 0.05$ ， $n = 15$ ， $CV = 2\%$ ），东莨菪内酯峰与丙酮内标峰分离度不得低于5.5（ $P = 0.05$ ， $n = 15$ ， $CV = 1.2\%$ ）。色谱图见图。

9 精密度

取东莨菪内酯对照品溶液（80μg/ml）连续进样6次，测定峰高，结果平均峰高（h）为4746±110，（ $P = 0.05$ ， $CV = 2\%$ ， $n = 9$ ）。

7 回收率

取丁公藤注射液0.5ml，共6份，其中2份加入200μg、2份加入400μg东莨菪内酯对照品混匀，按供试品溶液制备项下从“……置具塞试管中，……”起，依本法试验，按内标法计算。结果平均回收率为97.71±0.99%，（ $P = 0.05$ ， $CV = 1.53\%$ ， $n = 12$ ）。

8 样品测定

取供试品溶液依本法测定，按内标法计算。结果见表。

9 讨论

9.1 中国药典90年版一部法定为丁公藤*Erycibe obtusifolia*一种入药，据报道，实际生产中有把光叶丁公藤*E. schmidtii*和毛叶丁公藤*E. hainanensis*等一并入药的情况，由于产地、产季、品种、药用部位的不同，丁公藤中东莨菪内酯含量亦不同，各厂家的详细生产工艺及掌握工艺技术上的差异等因素，造成各厂家、各批号注射液间东莨菪内酯含量相差较大。这就表明原丁公藤注射液质量标准中以原生药和总固体的量来控制制剂的质量，尚不足以合理地控制制剂中的有效成分含量。

9.2 实测表明，除个别厂家产品中检不出东莨菪内酯以外，各厂家的丁公藤注射液中，东莨菪内酯含量波动在800~2030μg/ml之间，由此，初步给出丁公藤注射液中东莨菪内酯含

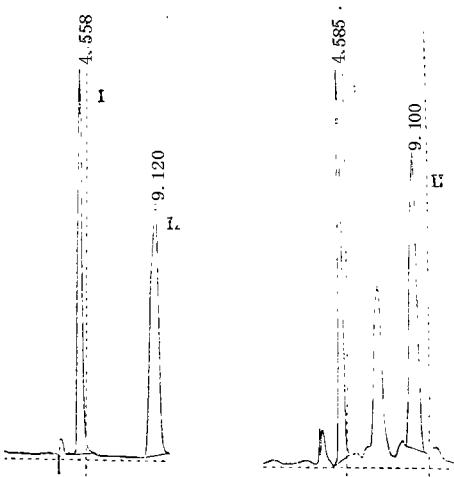


图 丁公藤注射液色谱图
I - 丙酮 II - 东莨菪内酯

表 丁公藤注射液中的东莨菪内脂含量测定结果

编号	厂家	批号	含量(μg/ml)	CV%	n
1	广西钦州制药厂	910419	1050	0.0	4
2	同上	910420	970	1.3	4
3	同上	910421	1130	3.2	4
4	同上	910423	800	3.5	4
5	同上	910424	1120	2.0	4
6	同上	910426	1020	2.1	4
7	同上	910927	1330	0.7	4
8	同上	910002	1110	0.0	4
9	同上	911004	1320	0.0	4
10	同上	911005	1220	3.8	4
11	江苏武进制药厂	910613	2030	4.1	4
12	同上	910614	1580	0.5	4
13	江苏盱眙制药厂	910514	0.0	0.0	4

量限度不得低于900μg/ml ($P=0.01$, $n=12$, $CV=26.38\%$) 为宜。

9.3 本次测定中, 发现有的厂家的产品在本实验条件下, 未能检出东莨菪内酯的存在, 提示该厂家所用的原药材可能有误, 或生产工艺技术掌握不当所致。这表明, 将东莨菪内酯作为丁公藤注射液中的质量控制指标是必要的、合理的。

9.4 每次重新开机测定, 均需用东莨菪内酯对照品溶液 (80μg/ml) 重新测定校正因子, 以保证测定的准确性。

9.5 本实验采用改进单纯形法计算机动态调优, 能快速、准确地找到最佳的流动相条件, 减少人工寻找流动相最佳条件的盲目性。

参 考 文 献

1 中国人民解放军一五一五部队医院, 等. 中华医学杂志, 1975, 55 (9) : 630

2 叶惠珍, 等. 中草药, 1981, 12 (5) : 5

3 中国医学科学院药物研究所药用植物研究室. 植物学报, 1977, 19 (4) : 259

4 郑宏业. 药检工作通讯, 1979, 9 (6) : 292

5 Morozova E V, et al. Metody Sourem Biokhim, 1975, 105: 7

6 陈瑞华, 等. 中日天然药物学术讨论会论文集. 北京: 1984 20

7 Morzora E V, et al. Prikl Biokhim Mikrobiol, 1974, 10 (3) : 477

8 Winkler B C, et al. J. Chromatog, 1968, 35: 570

(1993-02-21收稿)

(上接第233页)

参 考 文 献

1 程培元, 等. 药学报, 1984, 19 (8) : 593

2 王先荣, 等. 植物学报, 1984, 26 (4) : 425

3 王先荣, 等. 植物学报, 1985, 27 (3) : 285

4 王先荣, 等. 植物学报, 1986, 28 (4) : 415

5 Handong S, et al. Chemistry Letters, 1981, (6) : 753

6 Handong S, et al. Phytochemistry, 1991, 30 (2) : 603

(1993-03-03收稿)

安徽省高校科技函授部中医函授大专班面向全国招生

本部经安徽省教委批准面向全国招生。选用《全国高等中医院校函授教材》，开设十二门中医课程，与高等教育中医自学考试紧密相配合，由专家教授全面辅导和教学。凡具有高中语文程度者均可报名，附邮3元至合肥市望江西路6-008信箱中医函大，邮编230022，简章备索。