

3 讨论

大孔树脂型号众多,质量差异较大,无统一药用标准,合成原料及溶剂不易除去,应对树脂预处理,预处理试验表明经多次超声预处理后,树脂破碎,真空脱吸附法洗脱体积略小,洗脱液紫外吸收度下降较快,但洗脱倍数减少优势不显著,考虑到树脂应用过程中的可行性及其成本,本实验采用碱-醇预处理方法。

实验中的上柱液质量浓度、解吸乙醇体积分数、洗脱速度、洗脱体积等条件参考了相关文献报道<sup>[8]</sup>以及预试验而确定。实验结果表明,HP-20 虽有极高的解吸率,但是其吸附量较低;D-101A 对芍药苷有较好的吸附、洗脱能力,是纯化芍药苷的良好吸附剂,经其纯化处理后,芍药苷质量分数由15.3%提高到了80.11%,并且验证实验表明其工艺参数稳定,有一定的应用价值。

参考文献:

[1] 尹蓉莉,江靖,张淑儒等.大孔吸附树脂纯化白芍总苷的工艺研究[J].时珍国医国药,2005,16(7):610-612

[2] 张荣泉,王德仁.大孔吸附树脂在中药成分精制中的应用[J].中国药业,2004,13(5):72-73

[3] 胡晨旭,魏峰,郭治昕等.大孔吸附树脂分离纯化连翘酯苷A的工艺研究[J].中草药,2010,41(5):732-734

[4] 刘刚,费艳,赵卉等.大孔吸附树脂法纯化黄芩总黄酮工艺的研究[J].中草药,2010,41(1):58-60

[5] 徐晓宏,张铁军,廖茂梁等.大孔吸附树脂分离纯化黄连总生物碱的工艺研究[J].中草药,2007,38(8):1167-1170

[6] 冀兰鑫,黄浩,李长志等.赤芍药理作用的研究进展[J].药物评价研究,2010,33(3):233-236

[7] 卢丹,窦志华,罗琳.芍药内酯苷、芍药苷双指标考察赤芍提取工艺[J].江苏中医药,2008,40(5):64-66

[8] 廖正根,蒋且英,梁新丽等.大孔吸附树脂富集白芍牡丹皮共有成分芍药苷的工艺研究[J].江西中医学院学报,2007,19(5):68-70

## 高效液相色谱法测定骨刺胶囊中土的宁

王戎丽<sup>1</sup>,戴德雄<sup>2</sup>,朱莹<sup>2\*</sup>

(1. 丽水市食品药品监督管理局,浙江 丽水 323000; 2. 浙江维康药业有限公司,浙江 丽水 323000)

**摘要:**目的 建立骨刺胶囊中土的宁的测定方法。方法 采用 HPLC 法测定,Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8);体积流量 0.8 mL/min;柱温 35 ℃;检测波长 260 nm;进样量 20 μL。结果 土的宁在 0.118 8~1.782 0 μg 线性关系良好。平均回收率 96.34%,RSD 为 0.50%。结论 该方法简便、灵敏、专属性强、重复性好,可作为骨刺胶囊的质量控制方法。

**关键词:**骨刺胶囊;土的宁;高效液相色谱

中图分类号:R286.02 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2010)09-1482-02

骨刺胶囊为《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 17 册收录骨刺片改剂型品种,由昆布、骨碎补、党参、马钱子粉、桂枝、威灵仙、牡蛎(煅)等 15 味中药组成,具有散风邪,祛寒湿,舒筋活血,通络止痛的功效,用于颈椎、胸椎、腰椎、跟骨等骨关节增生性疾病,对风湿性、类风湿性关节炎有一定的疗效。马钱子粉的主要成分为土的宁,为有毒成分,因此需对其进行严格的限量。原标准采用薄层色谱法对土的宁进行测定。为了严格控制药品中土的宁,本实验采用 HPLC 法测定骨刺胶囊中土的宁,并对其量进行了严格的限定。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,Agilent 色谱工作站;BP211D 电子天平(感量 0.1 mg;0.01 mg);USC—

202 超声波清洗器。

土的宁对照品(批号 110705-200005)由中国药品生物制品检定所提供。骨刺胶囊(0.36 g/粒)由浙江维康药业有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件<sup>[1-2]</sup>:Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8);体积流量 0.8 mL/min;柱温 35 ℃;检测波长 260 nm;进样量 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:土的宁对照品易溶于三

\* 收稿日期:2009-11-26

氯甲烷中,故选用三氯甲烷直接溶解制成含土的宁 0.12 mg/mL 的溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:取本品内容物 3.6 g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加三氯甲烷 30 mL,浓氨水 1 mL,超声提取 75 min,放冷,滤过,以少量三氯甲烷洗涤药渣,合并滤液,水浴蒸干三氯甲烷,残渣加三氯甲烷使溶解,定量转移至 10 mL 量瓶中,加三氯甲烷至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性溶液的制备:按处方制备除马钱子以外的空白片,并按供试品溶液的制备方法制备阴性溶液。

2.3 方法专属性考察:按上述色谱条件分别对对照品溶液、供试品溶液和阴性溶液进行分析,结果无干扰,见图 1。

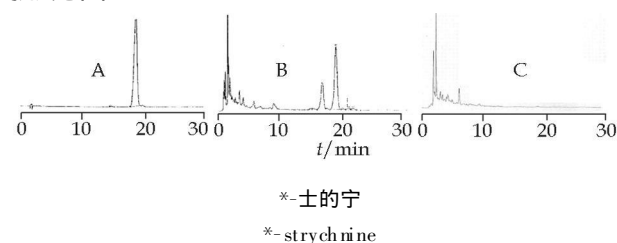


图 1 对照品(A)、骨刺胶囊(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of strychnine reference substance (A), Guci Capsula (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系考察:精密称取土的宁对照品 15.0 mg,置 25 mL 量瓶中,加三氯甲烷溶解并稀释至刻度。再精密吸取上述溶液 0.2、0.5、1.0、1.5、3.0 mL 置 5 mL 量瓶中,加三氯甲烷稀释并定容至刻度。分别精密吸取上述溶液 5  $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,得回归方程为  $Y = 2330.171463X - 28081.839$ ,  $r = 0.99995$ 。结果表明土的宁在 0.1188 ~ 1.7820  $\mu$ g 线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取 0.12 mg/mL 土的宁对照品溶液 5  $\mu$ L,注入液相色谱仪,进行测定,重复进样 6 次,测定土的宁峰面积,计算得其 RSD 为 0.57%。

2.6 重现性试验:取批号为 20050702 骨刺胶囊样品 1.8 g,共 6 份,制备供试品溶液,进行测定,计算得土的宁质量分数的 RSD 为 1.50%。

2.7 稳定性试验:取批号为 20050702 骨刺胶囊样品,制备供试品溶液,于室温下放置 0、2、4、6、8、16 h,进样,测定土的宁峰面积,计算得其 RSD 为 0.57%。表明供试品溶液在 16 h 内稳定。

2.8 回收率试验:取批号为 20050702 骨刺胶囊样品约 1.00 g,精密称定,共取 6 份,分别精密加入 0.44、0.55、0.66 mg 土的宁对照品,制备供试品溶液,进行测定,计算回收率,结果平均回收率为 96.34%,RSD 为 0.50% ( $n = 6$ )。

2.9 样品测定:取 8 批骨刺胶囊样品(批号分别为 20050701、20050702、20050901、20060702、20060903、20070101、20070102、20070201),制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,以外标法计算样品中土的宁的质量分数,结果分别为 0.13、0.20、0.13、0.17、0.15、0.17、0.17、0.20 mg/粒。考虑到本品中土的宁随原料有一定波动及装量的影响,以及考虑大生产实际,暂定本品每粒含马钱子粉以土的宁计为 0.13 ~ 0.21 mg。

### 3 讨论

取土的宁对照品溶液按色谱条件测定,对土的宁进行紫外波长(200 ~ 400 nm)扫描,在 255 nm 波长处有最大吸收,同时参考《中国药典》2005 年一部马钱子粉项下内容,确定测定波长为 260 nm。

依据《中国药典》2005 年一部马钱子粉项下内容,对乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10%磷酸调节 pH 值 2.8)的比例、流动相体积流量、柱温等做了相应筛选,最终确定以乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10%磷酸调节 pH 值 2.8)为流动相。

本实验对超声处理和回流提取进行了比较,结果显示超声提取优于回流提取的提取效果,故选择超声提取。同时还对提取溶液氯仿的体积 20、30、40 mL 进行了考察,结果表明提取体积对提取效果影响差异不大,故选择溶剂的体积为 30 mL。

参考文献:

- [1] 陈莹,袁丹,孔令锋,等. HPLC 法测定仙蟾胶囊中土的宁、脂蟾毒配基和华蟾酥毒基[J]. 中草药, 2008, 39(1): 58-60
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005