

· 制剂 ·

复方马钱子片质量标准的研究

张思巨 刘 丽 刘凤山(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

摘要 按新药审评标准对复方马钱子片进行了质量标准的研究,建立了4味主药的鉴别方法,并用正相高效液相色谱法对主要活性成分士的宁进行了含量测定。结果显示:本方法准确、可靠,分离度和重现性好,能作为本片剂的质控标准。

关键词 复方马钱子片 马钱子粉 川牛膝 当归 士的宁

Study on the Quality Standard of Compound Maqianzi Tablet*Zhang Siju, Liu Li, Liu Fengshan**(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)*

Abstract: The quality standard was studied according to requirement by Evaluation of new drugs of chinese government. A qualitative identifying method by TLC was established for four kinds of main herbs and strychnine was quantitatively determined by HPLC. Result shows: the method is accurate, reliable and with high separating degree and repeatability.

Key words: compound maqianzi tablet, semen strychni pulveratum, radix cyathulae, radix angelicae sinensis, strychnine

复方马钱子片由马钱子粉、川牛膝、当归、防风等8味中药经优选工艺后精制而成。具有祛风、通络、活血散结的功能,主治肌肉关节疼痛、肿胀、屈伸不利,适用于类风湿性关节炎病等。君药马钱子中的士的宁和马钱子碱为其主要活性成分,但超剂量服用又会引起毒副作用,为保证临床用药安全有效,严格控制片剂质量,除建立4味主药的鉴别方法外,制定士的宁碱的含量测定方法并规定含量限度范围是十分必要的。士的宁含量测定方法文献报道有气相色谱法^[1],反相^[2]和正相^[3]高效液相色谱法,薄层扫描法^[4]等,药典中马钱子采用计算分光光度法测定士的宁含量。我们比较了分光光度法、薄层扫描法及HPLC法,最终确认本文中拟定的方法最适宜于本片剂中士的宁的含量测定,测试快速、准确,阴性对照液无干扰,重现性好。

1 仪器,药品与试剂

岛津 UV-3000 紫外分光光度计;岛津

LC-3A 高效液相色谱仪,SPD-2A 紫外检测器,C-EIB 数据处理机;定容毛细管(Drummond Scientific Company USA);硅胶 G(青岛海洋化工厂,薄层色谱用);士的宁、马钱子碱,阿魏酸(中国药品生物制品检定所);复方马钱子片(中国中医研究院实验药厂);对照药材均购于同仁堂药店。

正己烷(上海化学试剂研究所)色谱纯,二氯甲烷(江苏无锡洪声化工厂)分析纯(重蒸),甲醇(北京化工厂)优级纯,氨水(北京益利精细化学品有限公司)分析纯,其余试剂均为分析纯。

2 薄层定性鉴别

2.1 马钱子的鉴别 取本品,刮去糖衣,研细(下称药粉),取药粉 1g,加氯仿-乙醇(10:1)混合液 5ml 与浓氨试液 0.5ml,密塞,超声处理 20min,放置 1h,滤过,滤液作为供试品溶液。另取士的宁和马钱子碱对照品,加氯仿制成每 1ml 各含 2mg 的混合溶液,作为对

照品溶液。按处方组成比例,取除马钱子粉以外的其余药味按工艺法制得干燥颗粒,又按供试品溶液制备法制得空白对照溶液。照中国药典 95 版一部 38 页鉴别(3)项试验,吸取上述 3 种溶液各 $10\mu\text{l}$,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,空白液无干扰。

2.2 川牛膝和防风的鉴别 取药粉 6g,加氯仿 60ml 回流提取 2 次,每次 1h,滤过,滤液浓缩至 1ml,作为供试品溶液。另取川牛膝和防风对照药材各 1g,分别加氯仿 $20\text{ml} \times 2$,同法制成每 1ml 含 0.5g 的川牛膝溶液及每 1ml 含 1g 的防风溶液,作为对照药材溶液。再按 2.1 中马钱子粉空白对照溶液的制备方法分别制成川牛膝和防风的空白对照溶液。照薄层层析法^[5]试验,吸取上述 5 种溶液各 $15\mu\text{l}$,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的亮兰色荧光斑点。

2.3 当归的鉴别 取药粉 2g,加甲醇-甲酸(9.5:0.5)15ml 冷浸过夜,滤取上清液,浓缩制成每 1ml 含 2g 药粉的溶液,作为供试品溶液。另取当归对照药材 0.5g,同法制成每 1ml 含 0.5g 的对照药材溶液。再取阿魏酸对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的对照品溶液。照薄层层析法^[5]试验,吸取上述 3 种溶液各 $6\mu\text{l}$,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以苯-氯仿-甲醇-甲酸(2:2:0.6:0.05)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2%三氯化铁-1%铁氰化钾试液,供试品色谱中在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

3 士的宁的含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱:ZORBAT RX-SIL 4.6mm \times 25cm;流动相:正己烷-二氯甲烷-

甲醇-氨水(8:8:1:0.07);检测波长:254nm;柱温:室温;流速:1.0ml/min;理论板数按士的宁峰计算应不低于 2500。在此条件下士的宁与马钱子碱及其它相关峰均能达到基线分离。

3.2 对照品纯度 按归一化法计算(除去溶剂峰),士的宁纯度在 98%以上。

3.3 线性关系考察 精密称取士的宁对照品 8mg,置 100ml 量瓶中,加乙酸乙酯制成每 1ml 含 $80\mu\text{g}$ 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、 $10\mu\text{l}$,按拟定的色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标,士的宁进样量为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程: $Y=1321+495554x$, $r=0.9999$,表明士的宁在 0.16~0.8 μg 范围内具有良好线性关系。

3.4 供试品溶液的制备与测定 取药粉约 0.5g(过 60 目筛),精密称定,置具塞锤形瓶中,精密加入氯仿 25ml 与氨水 1ml,密塞,轻轻振摇,称定重量,室温放置 24h,再称重,补足氯仿损失的重量,充分振摇,滤过。精密量取滤液 10ml,置分液漏斗中,用硫酸溶液(3 \rightarrow 100)提取数次(至提净止),合并硫酸液,加氨水使呈碱性,用氯仿提取数次(用薄层检查至提尽),合并氯仿提取液,蒸干,放冷,残渣用醋酸乙酯溶解至 10ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即为供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $5\mu\text{l}$,注入液相色谱仪,测定峰面积,以外标法计算,3 批样品士的宁含量分别为 1.213, 1.204, 1.268mg/片。本品每片(0.3g \pm)含士的宁($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$)应为 1.08~1.32mg。

3.5 空白试验 以本品制剂方法制备成不含马钱子粉的空白对照药粉,再按供试品液制备与测定项下操作制备成空白对照溶液。结果表明空白对照液未检出与士的宁对照液对应的色谱峰,视为空白无干扰。

3.6 精密度试验 精密吸取同一士的宁对照品溶液 $4\mu\text{l}$,重复进样 5 次,测定峰面积,相

对标准偏差 $RSD=1.03\%$ 。

3.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液,按拟定的时间间隔进样 $4\mu\text{l}$,测定峰面积,结果表明供试品溶液在 24h 内基本稳定, $RSD=1.65\%$ 。

3.8 重现性试验 取同一批号的样品,按上述方法制成 5 份供试品溶液,在拟定的色谱条件下测定峰面积,计算相当于每片样品(0.3g 药粉)的士的宁含量, $\bar{x}=1.129\text{mg}$, $RSD=1.41\%$ 。

3.9 回收率试验 精密称取已知含量(每 g 样品含 4.0338mg 士的宁)的本品(0.25 ± 0.0003)g,5 份,分别加入相应量的士的宁对照品,精密称定,按前述供试品制备方法制备成待测溶液,以拟定的色谱条件检测,结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果

样品中 士的宁 量(mg)	添加士 的宁量 (mg)	测得士 的宁量 (mg)	回收率 % $n=3$	平均 回收率 %	$RSD\%$
1.008	1.005	1.994	98.11		
1.010	1.068	2.069	99.16		
1.009	0.942	1.928	97.56	98.10	1.06
1.011	1.196	2.195	99.00		
1.010	1.166	2.137	96.66		

4 讨论

4.1 文献报道^[6]川牛膝中含有能促进蛋白质合成的活性成分蜕皮激素,我们以蜕皮甾酮为对照品按文献^[7]方法进行 TLC 定性试验,但川牛膝样品在薄层中与对照品相应位置斑点极不明显,而怀牛膝呈现十分清晰的对应斑点。为了保证本制剂的川牛膝药材确

切无误,避免与怀牛膝混淆,本文建立了以川牛膝为对照药材的荧光色谱鉴别法,此方法专属性强、灵敏可靠。

4.2 关于供试品溶液制备方法,曾考察过氨性氯仿热回流提取,再用甲醇定容的方法,该法较简单,但样品经甲醇定容注入液相色谱后,在士的宁主峰前出现一小分叉,而用乙酸乙酯或氯仿定容就无此现象,故正文采用乙酸乙酯定容。对超声提取法和本法(室温放置 24h)也经过比较,结果本法提出率高于超声法。供试品液制备中经碱、酸处理后,样品含生物碱比例增高,HPLC 分析时图谱清晰。

参考文献

- 1 高海,孙文基,沙振方. 马钱子及其制剂中士的宁和马钱子碱 GC 法测定. 中国中药杂志, 1990,15(11):30
- 2 顾志平,连文琰,刘慧灵,等. 中药马钱子商品中士的宁和马钱子碱的含量测定. 中国药学杂志, 1996,31(12):748
- 3 李海生,周静远. 九分散中士的宁的液相色谱测定法. 中成药研究,1985(7):14
- 4 定天明,张又平. 风湿片中士的宁、马钱子碱及麻黄碱的薄层扫描测定. 药物分析杂志,1993, 13(5):334
- 5 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 广州:广东科技出版社,化学工业出版社,1995. 附录 35
- 6 舒元瑜,邹昭明,杨安东. 六种牛膝中蜕皮激素的高效液相色谱测定. 中成药,1992,14(1):37
- 7 刘舞霞,史叶龙. 牛膝栽培品种的质量考察. 中草药. 1988,19(12):26

(收稿:1998-05-28)