

反相高效液相色谱法测定痹痛消丸中土的宁和马钱子碱的含量

冉卫兵 (武警河北总队医院, 石家庄 050081)

摘要: 建立痹痛消丸中土的宁和马钱子碱的反相高效液相分析法。采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱; 流动相为乙腈- 甲醇- 0.05mol·L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液- 三乙胺 (25: 19: 55: 1), 磷酸调 pH 至 3.5; 流速 1ml·min⁻¹; 检测波长 254nm。土的宁在 15.49~ 185.88μg·ml⁻¹ (r= 0.9999)、马钱子碱在 5.05~ 60.60μg·ml⁻¹ (r= 0.9998) 范围内呈良好的线性关系; 土的宁平均回收率为 98.42%, RSD 为 1.14%; 马钱子碱平均回收率为 100.30%, RSD 为 1.07%。本方法准确可靠, 简便灵敏, 重现性好, 可用于痹痛消丸中土的宁和马钱子碱的质量控制。

关键词: 痹痛消丸; 土的宁; 马钱子碱; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002- 7777 (2006) 03- 0160- 03

Determination of Strychnine and Brucine in Bitongxiao Pills by RP- HPLC

Ran Weibing (Hebei Armed Police Headquarters Hospital, Shijiazhuang, 050081)

ABSTRACT An RP- HPLC method was established for the determination of strychnine and brucine in bitongxiao pills. A Diamonsil C₁₈ column was used with acetonitrile- methanol- 0.05mol·L⁻¹ KH₂PO₄ solution- triethylamine (25: 19: 55: 1) as mobile phase and pH value was adjusted to 3.5. The flow rate was 1ml·min⁻¹ and detection wavelength was 254nm. The linear relationship was good when the content of strychnine was 15.49~ 185.88μg·ml⁻¹ (r= 0.9999) and brucine was 5.05~ 60.60μg·ml⁻¹ (r= 0.9998). The average recovery and RSD were 98.42% and 1.14% for strychnine and 100.30% and 1.07% for brucine respectively. The method was accurate and reliable, simple, sensitive and reproducible. It could be used for quality control for strychnine and brucine in Bitongxiao pills.

KEY WORDS Bitongxiao Pills; strychnine; brucine; RP- HPLC

痹痛消丸是由马钱子、制川乌、白花蛇、红花等多味中药制成的浓缩水丸, 为本院自制制剂。本文采用反相高相液相色谱 (RP- HPLC) 法测定痹痛消丸中土的宁与马钱子碱的含量, 为该制剂的质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC- 10Tvp 高效液相色谱仪, SPD- 10A vp 紫外检测器, C- R6A 数据处理机; 德国塞多利斯 BP211D 型电子分析天平; 土的宁及马钱子碱对照品 (中国药品生物制品检定所); 痹痛消丸 (30g·瓶⁻¹, 本院制剂室, 样品批号: 031105, 040216, 040621); 所用试剂乙腈、甲醇为色谱纯, 其余均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (4.6 × 250mm, 5μm); 流动相: 乙腈- 甲醇- 0.05mol·L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液- 三乙胺 (25: 19: 55: 1), 磷酸调 pH 至 3.5; 检测波长: 254nm; 流速: 1ml·min⁻¹; 柱温: 室温; 进样量: 20μl; 灵敏度: 0.02AUFs; 保留时间: 马钱子碱约 10min, 土的宁约 13min。

2.2 对照品溶液制备

取 105℃干燥至恒重的土的宁、马钱子碱对照品精密称定, 加甲醇分别制成每 ml 含 0.3098mg 和 0.2020mg 的溶液, 作为对照品贮备液。精密吸

取以上贮备液适量，加甲醇制成每 ml 含土的宁 61.96 μ g、含马钱子碱 20.20 μ g 的溶液，作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

取痹痛消丸细粉约 5g，精密称定，置 100ml 具塞锥形瓶中，精密加入氯仿 25ml 与浓氨试液 1ml，密塞，轻轻振摇，称定重量，超声处理 10min，静置 24h，再称定重量，用氯仿补足减失的重量，充分振摇，滤过。精密吸取续滤液 3ml 置 10ml 量瓶中，水浴挥去氯仿，残渣用流动相复溶并稀释至刻度，用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤，备用。

2.4 阴性对照品溶液制备

取按处方比例除去马钱子的其他药材适量，依照痹痛消丸的制备工艺和供试品溶液的制备方法制得不含马钱子的溶液，作为阴性对照液。

2.5 线性关系考察

精密量取土的宁对照品贮备液，加甲醇分别制成每 ml 含土的宁 15、30、60、90、120、150、180 μ g 的标准溶液；再精密量取马钱子碱对照品贮备液，加甲醇分别制成每 ml 含马钱子碱 5、10、20、30、40、50、60 μ g 的标准溶液，经 0.45 μ m 滤膜过滤后，分别依次进样，进样量 20 μ l，测定色谱峰面积。以土的宁与马钱子碱的峰面积 (Y)

对其浓度 (X) 进行线性回归，得回归方程。

$Y_{\pm} = 3.9 \times 10^4 x - 1.0 \times 10^4$, $r = 0.9999$, 线性范围 15.49~185.88 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$ 。

$Y_{\text{马}} = 4.5 \times 10^4 x - 3.7 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 线性范围 5.05~60.60 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$ 。

2.6 精密度试验

精密吸取土的宁对照品溶液 (61.96 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$) 及马钱子碱对照品溶液 (20.20 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$) 各 20 μ l，分别按上述色谱条件连续重复进样 5 次，测得土的宁峰面积平均值为 2349001，RSD 为 0.81%；马钱子碱峰面积平均值为 882207，RSD 为 0.64%，表明进样精密度良好。

2.7 干扰试验

精密吸取供试品溶液、土的宁与马钱子碱对照品溶液、阴性对照溶液各 20 μ l，分别进样，供试品色谱中，阴性对照在此保留时间内无干扰，见图。取缺马钱子的阴性对照液，按上述色谱条件测定，结果见图。由图可见，被测样品在与对照品色谱相应的位置上，有相同保留时间的色谱峰，而阴性样品无此峰，说明样品的其它成分对土的宁与马钱子碱的测定无干扰，且样品中被测成分与其它成分可达到基线分离。

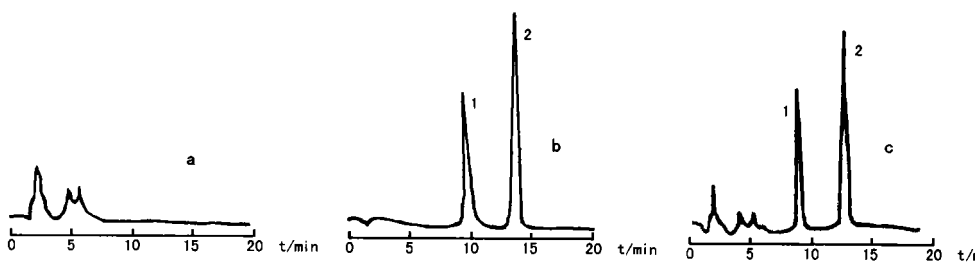


图 痹痛消丸 HPLC 色谱图

a 空白阴性对照；b 对照品；c 供试品；1 马钱子碱；2 土的宁

2.8 重复性试验

按上述测定方法，对同一批号 (031105) 的供试品分别进行 6 次测定，结果土的宁含量平均值为 0.59mg $\cdot$ g $^{-1}$ ，RSD 为 0.47%；马钱子碱含量平均值为 0.22mg $\cdot$ g $^{-1}$ ，RSD 为 0.58%。

2.9 稳定性试验

取供试品溶液室温放置，分别于 0、2、4、8、12、24h 依法测定，土的宁峰面积的平均值为 1360948，其 RSD 为 0.71%；马钱子碱峰面积的平均值为 593840，其 RSD 为 0.39%，结果显示供试品溶液在 24h 内稳定。

2.10 回收率试验

取同一批号已知含量 (土的宁 0.5872mg $\cdot$ g $^{-1}$ ；马钱子碱 0.2231mg $\cdot$ g $^{-1}$) 的痹痛消丸样品约 2.5g，共 6 份，精密称定，分别精密加入土的宁对照品 (0.3098mg $\cdot$ ml $^{-1}$) 5ml 与马钱子碱对照品 (0.2020mg $\cdot$ ml $^{-1}$) 3ml，摇匀，按供试品溶液制备方法操作，测定峰面积并计算含量，结果见表 1。

2.11 样品测定

取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ l，用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤，取续滤液 20 μ l 进样，记录色谱峰面积，外标法计算样品中土的宁和马钱子碱的含量，结果见表 2。

表 1 回收率测定结果 (n= 3)

组分	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
士的宁	1.4680	1.5490	2.9774	97.44		
马钱子碱	0.5578	0.6060	1.1602	99.41		
士的宁	1.4687	1.5490	3.0103	99.52		
马钱子碱	0.5580	0.6060	1.1575	98.93		
士的宁	1.4685	1.5490	2.9718	97.05	98.63	1.14
马钱子碱	0.5579	0.6060	1.1722	101.37	100.21	0.98
士的宁	1.4692	1.5490	3.0081	99.35		
马钱子碱	0.5582	0.6060	1.1703	101.01		
士的宁	1.4688	1.5490	2.9985	98.75		
马钱子碱	0.5581	0.6060	1.1689	100.79		
士的宁	1.4675	1.5490	3.0115	99.68		
马钱子碱	0.5578	0.6060	1.1624	99.77		

表 2 三批痹痛消丸中两成分的含量 (mg·g⁻¹, n= 3)

批号	士的宁	RSD(%)	马钱子碱	RSD(%)
031105	0.59	0.75	0.22	0.85
040216	0.62	1.24	0.23	1.10
040621	0.50	1.08	0.19	0.96

3 讨论

3.1 提取时间的选择

参照《中国药典》一部马钱子药材含量测定项下的提取方法^[1], 比较了超声提取 30min、15min、10min, 放置过夜、放置 24h 等提取方法, 结果以超声 10min 后放置 24h 提取效果最为理想。

3.2 流动相的选择

经多次筛选试验^[2,3], 选择乙腈-甲醇-0.05mol·L⁻¹KH₂PO₄ 溶液-三乙胺(25:19:55:1)作为流动相, 此条件下士的宁与马钱子碱分离效果好, 峰形尖锐, 保留时间恰当。流动相的 pH 值对分离效果及保留时间具有相当大的影响, 在测定过程中应特别注意调节和保持流动相的 pH 值。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部, 2000: 37
[2] 李松林, 陈邦元. RP-HPLC 同时测定马钱子散中士的宁和马钱子碱的含量[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(3): 167
[3] 宋金春, 杨 菱, 张 立, 等. 复方马钱子片中士的宁和马钱子碱含量的测定[J]. 医药导报, 2002, 21(2): 109

卡马西平致重症多形红斑型药疹 1 例

刘呈华, 魏传梅, 周肖龙, 李 芳 (山东省滨州医学院附院药剂科, 256603)

中图分类号: R971.6 文献标识码: B 文章编号: 1002-7777(2006)03-0162-01

患者, 男, 14 岁, 体重 62kg。因患“癫痫”20 余天前口服卡马西平 0.3g·d⁻¹ 治疗。4 天前自觉皮肤瘙痒、很快自颈后始渐及全身发生鲜红色水肿红斑, 口腔黏膜见散在白色水疱, 部分破溃、糜烂。同时伴畏寒、高热、头痛。在家静点药物 1 天(药品名及剂量不详), 并口服板蓝根冲剂无效, 于 2005 年 1 月 5 日日来我院皮肤科就诊。既往无药物过敏史, 门诊以“重症多形红斑药疹”收入院。入院时查体: T 40℃, P 130 次/分, R 31 次/分, Bp 17.6/7.1KPa。皮肤科情况: 患者全身见弥漫对称分布的绿豆至黄豆大小红斑, 鲜红色, 中央色深或有水疱, 水疱扁平或饱满。尼氏征(-), 部分破溃、糜烂、渗出。口腔黏膜见散在白色水疱, 部分破溃、糜烂。龟头糜烂、渗出显著, 表面覆黏稠脓液, 邻近包皮亦见糜烂, 触痛明显。精神欠佳。实验室检查: WBC 3.91×10⁹L⁻¹, N 0.78, 肝功示 ALT 77.6u·L⁻¹, LDH 548.8u·L⁻¹, CK 577.5u·L⁻¹, CKMB 122.6u·L⁻¹, HBDH 308.4u·L⁻¹, 血沉 42mm·h⁻¹, 尿液检查及肾功能无明显异常。入院后给予氟美松 15mg·d⁻¹, 大剂量静脉丙种球蛋白 25g·d⁻¹。静滴抗生素抗感染及营养支持疗法, 治疗 4 天, 患者病情未得以控制, 体温仍居高不退。头面部、躯干及四肢皮肤颜色暗红或褐色, 背痛、臀部及会阴部见散在多处糜烂面。

疼痛不能翻身。食欲可、两便可, 精神较前好转。将氟美松改为甲基强的松龙 100mg·d⁻¹, 继续用静脉种丙种球蛋白治疗 1 周后, 体温下降 38℃ 以下, 皮损渐干燥, 清洁, 食欲渐增, 两便正常, 无关节疼痛, 会阴部基本愈合, 全身皮损基本干燥结痂, 大部分痂皮脱落, 暴露鲜红色皮肤, 较嫩, 能下床适量活动。半月后, 病情稳定, 体温恢复正常。大部分皮损已干燥结痂、脱落, 未见新的皮损出现, 激素逐渐减量。在激素减量过程中, 病情稳定、无反跳, 全身皮肤、黏膜已完全恢复正常, 无红斑、糜烂, 饮食、睡眠、大小便皆正常, 共住院 23 天, 出院时已停用糖皮质激素。

讨论: 卡马西平主要用于治疗癫痫及三叉神经痛等。本例患者既往无药物过敏史, 服用卡马西平 20 余天后出现皮肤瘙痒及全身红斑, 重症多形红斑药疹与卡马西平密切相关。该病病情较重, 及时用大剂量糖皮质激素和大剂量静脉丙种球蛋白是十分必要的。另外, 抗生素抗感染、营养支持疗法也是治疗中的重要环节; 同时要加强对口腔、皮肤、黏膜的清洁护理。在使用大剂量糖皮质激素的同时, 必须考虑到由此带来的诸多副作用, 要观察患者各方面的情况变化, 控制继发感染和并发症。