

克伤外用舒筋药水质量标准的研究

郑成(浙江省药品检验所中药室,浙江 杭州 300004)

摘要:目的 制定克伤外用舒筋药水的质量标准。方法 采用反相高效液相色谱法对制剂的主要成分芍药苷进行定量测定;采用薄层色谱法对制剂进行定性鉴别。结果 本实验对处中主药大黄、独活、羌活进行薄层色谱鉴别,色谱特征明显、重现性好;含量测定芍药苷的平均回收率 100.1%,线性范围 46.45~696.75ng,重现性 RSD 为 0.8%。结论 建立了该制剂的质量标准,定性和定量方法可靠、实用。

关键词:克伤外用舒筋药水;大黄;独活;羌活;芍药苷;薄层色谱鉴别

克伤外用舒筋药水原标准收载于《浙江省药品标准》(1993 年版),由大黄、羌活、独活、赤芍等十六味药制成,具舒筋活络、祛风定痛的功效。原标准无鉴别项和含量测定项,现对该标准进行提高,以芍药苷为对照品,采用 HPLC 法测

定样品中芍药苷的含量。同时还增加大黄、羌活、独活的薄层色谱鉴别。

1 仪器与试药

- 惠普 HP1100 系列液相色谱仪(自动进样分析),UV-260

岛津紫外分光光度仪。所用硅胶 G 板均为自制。试验所用试剂均为 AR 级。芍药苷由中国药品生物制品检定所提供,批号为 0736-9913。大黄、羌活、独活对照药材均由中国药品生物制品检定所提供。克伤外用舒筋药水为某药业公司产品(批号为 0201006,020608,0108004)。

2 薄层鉴别

2.1 大黄的薄层鉴别

取本品 20mL,加水 20mL,水浴上蒸至约 15mL,转移至分液漏斗中,用乙醚提取 3 次,每次 10mL,合并乙醚液,挥干,残渣加氯仿 1mL 使溶解作为供试品溶液。另取大黄对照药材 0.5 g,加乙醚 10mL,超声处理 10min,滤过,滤液挥干,残渣加氯仿 1mL 使溶解作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述两种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以 石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨气中熏。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的主斑点。而阴性对照样品无相应的斑点。见图 1。

2.2 独活的薄层鉴别

取独活对照药材 0.5 g,加乙醚 10mL,超声处理 5min,滤过,取滤液作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB)试验,吸取鉴别(1)项下的供试品溶液和对照药材溶液各 3 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以 正己烷-丙酮(7:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的主斑点。而阴性对照样品无相应的斑点。见图 1。

2.3 羌活的薄层鉴别

取羌活对照药材 0.5 g,加乙醚 10mL,超声处理 5min,滤过,取滤液作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB)试验,吸取鉴别(1)项下的供试品溶液和对照药材溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以 正己烷-醋酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的主斑点。而阴性对照样品无相应的斑点。见图 1。



图 1 样品薄层鉴别图

A. 1. 阴性样品 2. 大黄对照药材 3、4、5 样品; B. 1. 阴性样品 2. 独活对照药材 3、4、5 样品; C. 1. 阴性样品 2. 羌活对照药材 3、4、5 样品

3 芍药苷的含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱为 Dikma C18 (250mm $\times$ 4.6mm,5 μ m),乙腈-0.1%磷酸溶液(12:88)为流动相;检测波长为 230nm;流速为 1.0mL/min,进样量 5 μ L。

3.2 检测波长的确定

取芍药苷对照品液(46.45 μ g/mL),在 200~400nm 范围内扫描,结果在 230.0nm 处有最大吸收,故检测波长确定为 230nm。

3.3 对照品溶液与供试品溶液的制备

对照品溶液的制备 精密称取经以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24h 芍药苷对照品适量,加 50%乙醇制成每 1mL 含 0.10mg 的溶液,即得。

供试品溶液的制备 精密量取本品 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50%乙醇至刻度,摇匀,滤过,滤液用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

3.4 线性关系考察

精密吸取对照品液(浓度为 0.04645mg/mL)1、3、7、10、15 μ L,按上述色谱条件测定峰面积,以进样量(ng)对峰面积(A)进行线性回归,求得回归方程:Y=0.8189 $\times$ -2.1288, γ =1。芍药苷在 46.45~696.75ng 范围内呈良好的线性关系。

3.5 空白试验

经实验,缺芍药样品在芍药苷对照品保留时间处无明显的峰,阴性样品无干扰。见图 2。

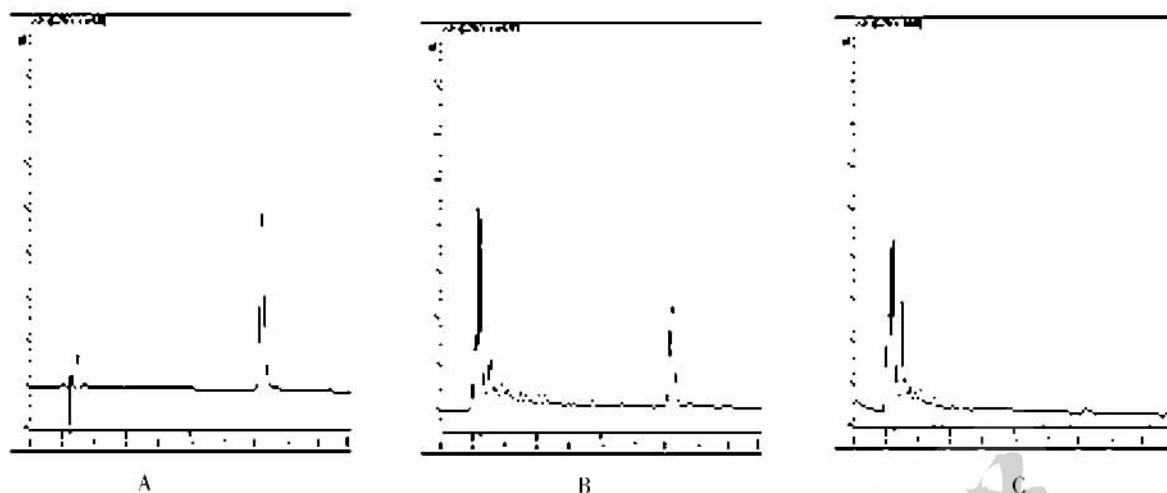


图2 样品高效液相图
A. 对照品;B. 样品;C. 阴性样品

3.6 精密度试验

取同一供试品溶液(0108004),重复进样6次,其峰面积RSD=0.3%(n=6)。

3.7 稳定性试验

取同一供试品溶液(0108004),间隔一定时间测定一次,其峰面积RSD=0.8%(n=8)。

3.8 重现性试验

取同一批号样品6份(0108004),分别依本法处理进行测定,测定芍药苷平均含量0.1723mg/mL,RSD=0.8%(n=6)。

3.9 回收率试验

精密称取已知含量的样品适量(0108004),精密加入一定量的芍药苷对照品,依本法进行含量测定并计算回收率,测定平均回收率为100.1%,RSD=0.8%(n=6),结果见表1。

表1 回收率试验结果

序号	取样量 (mL)	样品中芍药 苷量(mg)	加入芍药 苷量(mg)	测得芍药 苷量(mg)	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
1	2	0.3446	0.5448	0.8874	99.6		
2	2	0.3446	0.5448	0.8848	99.2		
3	2	0.3446	0.5448	0.8867	99.5		
4	2	0.3446	0.5448	0.8931	100.7	100.1	0.8
5	2	0.3446	0.5448	0.8949	101.0		
6	2	0.3446	0.5448	0.8943	100.9		

3.10 样品测定

依法测定样品三批,结果见表2。

表2 样品含量测定结果

批号	称样量(mL)	测定值(mg/mL)	RSD%
020608	0.1737	0.17	0.8
	0.1675		
0201006	0.1422	0.14	0.1
	0.1426		
0108004	0.1744	0.17	0.8
	0.1718		

4 小结与讨论

4.1 乙醇渗漉法是中成药提取制备常规方法之一,对中药的各种成分均有较高的提取效率,各种中药外科用药,尤其伤科制剂,多用此法制备。克伤外用舒筋药水即以60%的乙醇作溶剂采用渗漉法制得,故对方中中药味的脂溶和水溶成分均能较完全地提取。故制定中成药质控方法,要结合处方中各药的植化特点和制剂特点,才能制定简便可靠的质量标准。

4.2 独活和羌活均为伞形科植物,现多对其低极性的脂溶成分进行薄层色谱鉴别,故直接取大黄薄层鉴别的供试品溶液作为两者的供试品液即可,另外参考文献发现对独活和羌活的薄层鉴别所用系统大多含苯、甲苯等剧毒试剂,经反复比较试验,确定了本实验采用的展开系统,这样仅用一种供试液就可完成三味主药的鉴别,方法简便,且特征明显、重现性好。

4.3 由于渗漉法对所测定的活性成分芍药苷提取较为完全,直接进样就可获得分离效果较好的色谱图,为保护色谱柱,经试验比较了蒸干后以甲醇、50%甲醇及以50%醇、50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇等溶剂稀释的方法,结果以用50%乙醇直接稀释最佳,为正文采用。

参考文献

- [1] 中国药典,2000年版(一部)[S]2000.
- [2] 苗明三,李振国.现代实用中药质量控制技术.北京:人民卫生出版社,2000,508.
- [3] 吕武清,龙新华.中成药中的药材薄层色谱鉴别.北京:人民卫生出版社,1997,318.

收稿日期:2003-07-14