

伤速康涂膜剂的质量标准研究

邓体瑛¹, 谢玲¹, 左亚杰², 邓桂明², 欧阳荣² (1. 湖南中医学院, 长沙 410007; 2. 湖南中医学院附属第一医院, 长沙 410007)

摘要:目的 建立伤速康涂膜剂的质量标准。方法 采用 TLC法对方中大黄、栀子进行定性鉴别, 并采用反相高效液相色谱法对涂膜剂中的大黄素、绿原酸进行含量测定。结果 大黄素的平均回收率为 101.8%, RSD为 1.96%, 绿原酸的平均回收率为 102.1%, RSD为 2.0%。结论 该方法简便易行, 重现性好, 可作为本品的质量控制标准。

关键词: 伤速康涂膜剂; 薄层鉴别; 大黄素; 绿原酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R926.23 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)01-0056-03

Study on Quality Standards for Shangsukang Film

DENG Ti-ying, XIE Ling, ZUO Ya-jie, DENG Gui-ming, OUYANG Rong (1. TCM University of Hunan, Changsha 410007, China; 2. The First Affiliated Hospital, TCM University of Hunan, Changsha 410007)

基金项目: 湖南省卫生厅中医药科研基金资助项目

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quality standard for SHANGSUKANG Film. **METHODS** Radix et Rhizoma Rhei, Fructus Gardeniae in this prescription were identified by TLC. The content of Emodin and Chlorogenic acid were determined by HPLC. **RESULTS** The average recovery of Emodin was 101.8%, and the RSD was 1.96%. The average recovery of Chlorogenic acid was 102.1%, and the RSD was 2.0%. **CONCLUSION** The method is simple, feasible and reproducible and can be used for the quality control of SHANGSUKANG Film.

KEY WORDS: Shangsukang Film; TLC; emodin; chlorogenic acid; HPLC

伤速康涂膜剂系大黄、金银花、栀子、蒲公英、白芷、当归等十一味药组成,具有活血凉血、散瘀通络的功效,临床上用于治疗急性软组织损伤,疗效显著。笔者采用薄层色谱法对大黄、栀子进行定性鉴别,并采用反相 HPLC对本品的两味君药大黄、金银花中的大黄素、绿原酸进行含量测定。

1 仪器与试剂

Agilent1100 series高效液相色谱仪。雷磁 PHS - 3C PH计。KQ - 600型超声波清洗器。万分之一电子分析天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司)。大黄素、绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所)。硅胶 G(青岛海洋化工厂)。伤速康涂膜剂(本院自制)。流动相所用甲醇(色谱纯,上海陆都化学试剂厂)。其余试剂及试药均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 大黄

取本品 20mL及缺大黄的阴性涂膜液 20mL,分别用 50mL95%乙醇热回流提取两次,每次 1h,合并提取液,过滤,挥干乙醇,残渣用 10mL水溶解,加入稀盐酸 2mL热回流 0.5h,放冷。用 20mL乙醚分别萃取两次,分取乙醚层,挥干,加氯仿 5mL溶解残渣,即得供试品溶液及缺大黄的阴性对照液。另取大黄对照药材 5g,加入 60mL乙醇热回流提取 2h,同法制成大黄对照药材溶液。另取大黄素对照品加甲醇配成 1mg/mL浓度的大黄素对照品溶液。取以上 4种溶液各 4μL,分别点于同一块硅胶 G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(12:4:8:0.4:8)的上层液为展开剂展开,展开后,取出,晾干,自然光下观察,置氨气熏蒸后斑点显红色^[1]。供试品色谱与对照药材色谱在相应位置显相同的 3个斑点,而均与大黄素对照液的斑点相对应,阴性对照液色谱中无相应斑点。

2.2 栀子

取本品 10mL及缺栀子的阴性涂膜液 10mL,分别加入无水乙醇 10mL,超声 30min,过滤,即得供试品溶液和阴性对照液;另取栀子对照药材 5g,同法制得栀子对照药材溶液;取栀子苷对照品加甲醇配成 1mg/mL浓度的栀子苷对照品溶液。取以上 4种溶液各 2μL点于同一块硅胶 G薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)展开,展开后喷以硫酸乙醇(5→10)溶液,110℃加热 10min至斑点显现。供试品色谱与栀子对照药材及栀子苷对照溶液色谱在相应位置上显相同颜色斑点,而阴性对照液色谱中无相应斑点。

3 检查

3.1 pH范围

4.0~5.0。

3.2 刺激性

对皮肤无刺激性。

3.3 相对密度

相对密度不得低于 1.05。

4 含量测定

由于本品是复方制剂,故其含量测定是采用了两个指标来衡量,同时测定样品中的大黄素、绿原酸可较为全面有效地控制产品质量。

4.1 供试品溶液的制备

精密称定本品 3.5g,置 25mL量瓶中,加入甲醇至刻度,超声 30min,补足甲醇至刻度,摇匀,过滤,进样前经微孔滤膜(0.45μm)过滤,作为供试品溶液。

4.2 对照品溶液的制备:取经过五氧化二磷干燥 24h的大黄素、绿原酸对照品,精密称定,分别加甲醇溶解制成每毫升含 0.05mg的大黄素对照品溶液和每毫升含 0.06mg的绿原酸对照品溶液。

4.3 大黄素的含量测定^[2]

4.3.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱:Scienc home ODS 200mm×4.6mm;流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(56:44);检测波长:254nm;流速:1.0mL/min;柱温:45℃;进样量 10μL。在此色谱条件下,理论塔板数按大黄素峰计达 2000以上,分离度为 2.0,且阴性对照无干扰。

4.3.2 线性范围考察 精密吸取大黄素对照品溶液 2,4,6,8,10μL注入液相色谱仪,测定峰面积,以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,线性回归得回归方程:Y=3241.79461X-49.98143, r=0.9994,因此大黄素在 0.1128μg~0.5640μg之间线性关系良好。

4.3.3 样品含量测定 精密吸取供试品溶液和大黄素对照品溶液各 10μL注入液相色谱仪,测定大黄素峰面积。外标法计算样品中大黄素的含量。结果见表 1。

表 1 样品中大黄素含量测定结果(n=3)

Tab 1 Determination of the contents of emodin in film			
批号	大黄素平均含量/(mg/g)	RSD/%	
041223	0.2533	1.3	
050110	0.2173	1.1	
050112	0.2699	0.6	

4.3.4 回收率试验 精密称取批号为 050112的涂膜液 9份,每份约 3g,分别精密加入大黄素对照品(0.1230mg/mL)溶液 5mL,4mL,3mL,按“4.1”项下方法操作,测定大黄素含量,计算回收率,结果见表 2。

表 2 大黄素回收率试验结果 (n=9)

Tab 2 The recovery test of emodin (n=9)						
编号	涂膜剂中含大黄素量 /mg	加入大黄的量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.8028	0.6150	1.439	103.4		
2	0.7539	0.6150	1.373	100.7		
3	0.7862	0.6150	1.412	101.8		
4	0.8144	0.4920	1.327	104.2		
5	0.8369	0.4920	1.324	99.00	101.8	1.96
6	0.7937	0.4920	1.279	98.64		
7	0.9045	0.3690	1.287	103.7		
8	0.8864	0.3690	1.263	102.1		
9	0.8953	0.3690	1.274	102.6		

4.3.5 精密度试验 精密吸取大黄素对照品溶液 6μL,按上述 HPLC条件,重复进样 5次,结果大黄素峰面积的 RSD=1.5%。

4.3.6 重复性试验 取同一批号样品,按上述方法测定大黄素含量,共测定 6次。其测定结果的平均值为 0.2368 mg/g, RSD=1.9%。

4.4 绿原酸的含量测定^[3]

4.4.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱: Sciencome ODS 200×4.6mm;流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液 (14:86);检测波长: 327nm;流速: 1.0mL/min;柱温: 25℃,进样量 5μL。在此色谱条件下,理论塔板数按绿原酸峰计达 4000以上,分离度为 13.0,且阴性对照无干扰。

4.4.2 线性范围考察 精密吸取绿原酸对照品溶液 (0.6576mg/mL) 2, 4, 6, 8, 10, 20μL分别注入液相色谱仪,测定峰面积,以进样量 (μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,线性回归得回归方程: Y=275.59953X-47.27337, r=0.9997,因此绿原酸在 1.3152~13.152μg之间线性关系良好。

4.4.3 样品的含量测定 精密吸取供试品溶液和绿原酸对照品溶液各 5μL注入液相色谱仪,测定绿原酸峰面积。外标法计算样品中绿原酸的含量。结果见表 3。

表 3 样品中绿原酸含量测定结果 (n=3)

Tab 3 Determination of the contents of chlorogenic acid in film (n=3)		
批号	绿原酸平均含量 /(mg/g)	RSD /%
041223	1.7698	2.7
050110	1.6350	3.0
050112	2.0291	3.0

4.4.4 回收率试验 精密称取批号为 050112的涂膜液 9份,每份约 3g,分别精密加入绿原酸对照品 (0.8522mg/mL) 溶液 2.0, 1.5, 1.0mL,按“4.1”项下方法操作,测定绿原酸含

量,计算回收率,结果见表 4。

表 4 绿原酸回收率试验结果 (n=9)

Tab 4 The recovery test of chlorogenic acid (n=9)						
编号	涂膜剂中含绿原酸量 /mg	加入绿原酸的量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	2.8013	1.7044	4.514	100.5		
2	2.9779	1.7044	4.672	99.42		
3	2.7064	1.7044	4.464	103.1		
4	3.0441	1.2783	4.358	102.8		
5	3.2159	1.2783	4.538	103.4	102.1	2.0
6	2.9066	1.2783	4.236	104.0		
7	3.1537	0.8522	3.997	98.92		
8	3.0134	0.8522	3.907	104.8		
9	2.9981	0.8522	3.865	101.7		

4.4.5 精密度试验 精密吸取绿原酸对照品溶液 6μL,按上述 HPLC条件,重复进样 5次,结果绿原酸峰面积的 RSD=3.0%。

4.4.6 重复性试验 取同一批号样品,按上述方法测定绿原酸含量,共测定 6次。其测定结果的平均值为 1.9756 mg/g, RSD=2.5%。

5 讨论

5.1 曾有文献报道,以 50%甲醇为溶剂,超声波振荡 30min 提取样品中绿原酸效果最好。但本品中需要同时提取大黄素,实验中发现 50%甲醇造成大黄素的提取不完全,且所用膜材为水溶性的聚乙烯醇,用 50%甲醇超声后膜材部分溶解其中,造成滤纸堵塞,过滤极为缓慢,故改用纯甲醇一次同时提取大黄素、绿原酸,操作过程简便,滤过迅速。

5.2 除本文收录的两个薄层鉴别以外,还对处方中金银花、白芷进行了薄层鉴别研究。由于所含药味众多,紫外灯下干扰成分多,缺乏专属显色剂,待测成分未检出。

5.3 本品中由于药味众多,成分复杂, HPLC易受到杂质峰干扰,经过多次调整流动相组成和比例方能达到目前良好的峰形和分离效果,但每次分析时间偏长 (约 50min)。曾考虑用梯度洗脱同时测定样品中大黄素、绿原酸以缩短分析时间,但两者所要求流动相极性相差过远,梯度洗脱效果不好,仍定为分开测定两种成分。

参考文献

[1] 柳春兴,李亭.跌打活血涂膜剂质量控制研究.中国药房, 2003,14(2):109-111.

[2] 颜凯新,吕佳,沙明,曹爱民. HPLC法测定中药伤痛涂膜剂中大黄素的含量.中成药, 2000,22(10):730-731.

[3] 熊佐章, HPLC法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量.中国药师, 2003,6(10):636-637.

收稿日期: 2006-03-25