

活血巴布剂质量标准研究*

庞 鹏, 陈寅生[△], 赵 颖

(江苏省南京市中医院, 江苏 南京 210001)

摘要:目的 建立活血巴布剂的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法鉴定处方中地肤子、黄柏、天南星、地鳖虫等药味, 采用超高效液相色谱法对处方中有效成分虎杖苷进行含量测定。结果 活血巴布剂中地肤子、黄柏、天南星、地鳖虫薄层色谱斑点显色清晰; 虎杖苷的加样回收率为 95.03%, RSD 为 0.45% ($n=6$), 3 批样品的平均含量为 10.79 mg, RSD 为 0.49% ($n=3$)。结论 该方法简便可行, 能很好地控制活血巴布剂的质量。

关键词:活血巴布剂; 薄层色谱法; 超高效液相色谱法; 虎杖苷; 含量测定; 质量标准

中图分类号: R932; R284.1; R274

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)21-0020-03

Study on Quality Standard of Huoxue Cataplastm

Pang Peng, Chen Yinsheng, Zhao Ying

(Nanjing Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210001)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Huoxue Cataplastm. **Methods** TLC method was adopted for identification of *Fructus Kochiae*, *Phellodendron Chinensis Cortex*, *Rhizoma Arisaematis*, *Eupolyphaga sinensis* in the prescription. HPLC method was used to determine the content of polydatin in the prescription. **Results** The TLC spots of *Fructus Kochiae*, *Phellodendron Chinensis Cortex*, *Rhizoma Arisaematis*, *Eupolyphaga sinensis* in Huoxue Cataplastm were clear. The recovery rates of polydatin was 95.03% and RSD was 0.45% ($n=6$). The average value of the three batches of samples was 10.79 mg and RSD was 0.49% ($n=3$). **Conclusion** This method is simple and feasible, which can effectively control the quality of Huoxue Cataplastm.

Key words: Huoxue Cataplastm; TLC; HPLC; polydatin; content determination; quality standard

活血散是我院临床老中医根据祖传方剂提炼、精简而成的医院制剂, 临床应用时间长, 且安全、有效。但其使用过程中存在缺陷: 含有动物药土鳖虫, 放置时间长容易变质; 临用时需要加饴糖调敷, 容易掉药和污染衣物, 临床使用不方便; 因调制药粉量不准确, 容易造成散剂使用剂量不准, 影响疗效; 顺应性差, 散剂药粉太粗, 外敷有沙粒感, 患者自觉不舒适, 对皮肤有刺激性。以上诸多缺点严重限制了活血散的使用, 有必要寻求一种有效、便捷的现代剂型替代传统剂型。活血巴布剂是由散剂开发的新剂型, 由地肤子、黄柏、天南星、地鳖虫等药味组方, 具有活血化瘀、消肿止痛的功效, 用于骨折、骨裂及软组织挫伤等跌打损伤诸症。本研究中采用薄层鉴别和含量测定方法来控制活血巴布剂的质量, 从而建立其质量标准。现报道如下。

1 仪器与材料

1290 型超高效液相色谱仪, 紫外检测器(安捷伦公司)。虎杖苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 111575-200502); 地肤子、天南星、黄柏、地鳖虫对照药材均购于安徽亳州永刚饮片厂有限公司, 经南京市中医院李文主任中药师鉴定, 均符合药典要求; 活血巴布剂为

医院自制制剂, 饮片均购于安徽亳州永刚饮片厂有限公司, 经南京市中医院李文主任中药师鉴定, 符合药典要求; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

地肤子^[1-2]: 取活血巴布剂 1 片, 加甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 滤液蒸干, 定容至 10 mL 容量瓶, 作为供试品溶液。按上述方法制备地肤子对照药材溶液。取地肤子的活血巴布剂 1 片, 按上述方法制备阴性对照品溶液。吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照品溶液适量, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开剂为二氯甲烷-甲醇-水(10:4:1.2), 展开, 取出, 晾干, 显色剂为 10% 硫酸乙醇溶液。供试品溶液色谱中, 斑点显色清晰, 阴性对照无干扰。色谱图见图 1A。

天南星^[3-4]: 取活血巴布剂 1 片, 加乙醇 30 mL, 冷浸 24 h, 滤过, 滤液水浴浓缩至干, 加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。取天南星对照药材 2 g, 按上述方法制备对照药材溶液。取地肤子的活血巴布剂 1 片, 按上述方法制备阴性对照品溶液。吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照品溶液适量, 点于同一硅胶 G 薄层板

*基金项目: 江苏省南京市医学科技发展项目[YKK14141]。

第一作者: 庞鹏, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为医院药学, (电话)025-52276130(电子信箱)njqly@163.com。

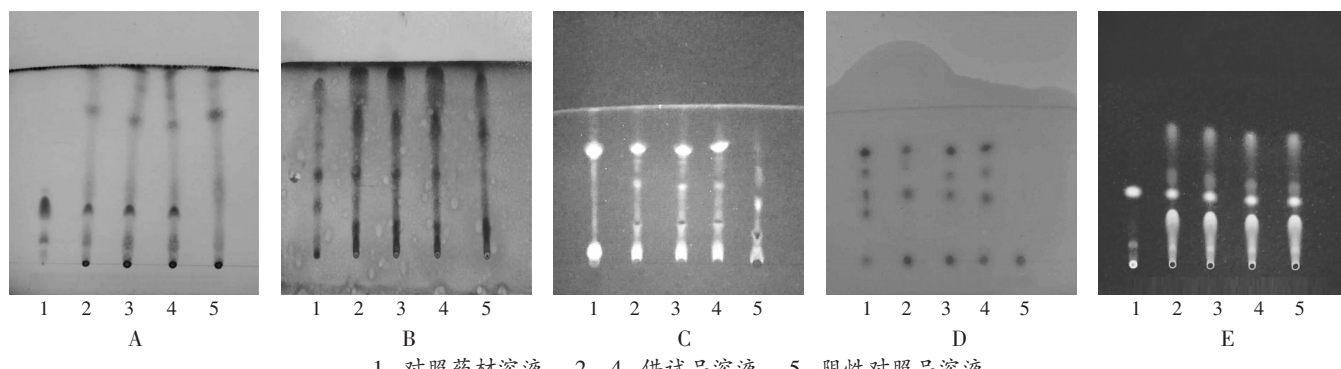
[△]通信作者: 陈寅生, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为医院药学, (电子信箱)1783899251@qq.com。

上,展开剂为二氯甲烷:甲醇(9:1),显色剂为10%磷钼酸乙醇溶液。供试品溶液色谱中,斑点显色清晰,阴性对照无干扰。色谱图见图1B。

黄柏^[5-6]:取活血巴布剂1片,加1%醋酸甲醇溶液40 mL,于60℃超声处理20 min,滤过,滤液浓缩至2 mL,作为供试品溶液。取黄柏对照药材0.1 g,加1%醋酸甲醇20 mL,按上述方法制备对照药材溶液。取缺黄柏的活血巴布剂1片,按上述方法制备阴性对照品溶液。吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照品溶液各5 μL,点于同一硅胶G薄层板上,展开剂为三氯甲烷-甲醇-水(30:15:4)的下层溶液,置氨蒸气饱和的展缸内,展开。置紫外光灯(365 nm)下,供试品溶

液色谱中,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。色谱图见图1C。喷以改良碘化铋钾试液,供试品溶液色谱中,斑点显色清晰,阴性对照无干扰。色谱图见图1D。

地鳖虫^[7-8]:取活血巴布剂1片,加甲醇50 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇5 mL使溶解,作为供试品溶液。取土鳖虫对照药材1 g,按上述方法制备对照药材溶液。取缺土鳖虫的活血巴布剂1片,按上述方法制备阴性对照品溶液。照《中国药典》薄层色谱法进行试验,吸取上述溶液各10 μL,点于同一硅胶G薄层板上,展开剂为甲苯-二氯甲烷-丙酮(5:5:0.5),置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,斑点显色清晰,阴性对照有干扰。色谱图见图1E。



1. 对照药材溶液 2-4. 供试品溶液 5. 阴性对照品溶液

A. 地肤子 B. 天南星 C. 黄柏(紫外光灯为 365 nm) D. 黄柏(喷以改良碘化铋钾试液) E. 地鳖虫

图1 薄层色谱图

2.2 虎杖苷含量测定^[9-10]

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(2)柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱号225-1125;流动相:乙腈-水(23:77);检测波长:306 nm。理论板数(按《中国药典(一部)》虎杖药材项下)虎杖苷峰计应不低于3 000。

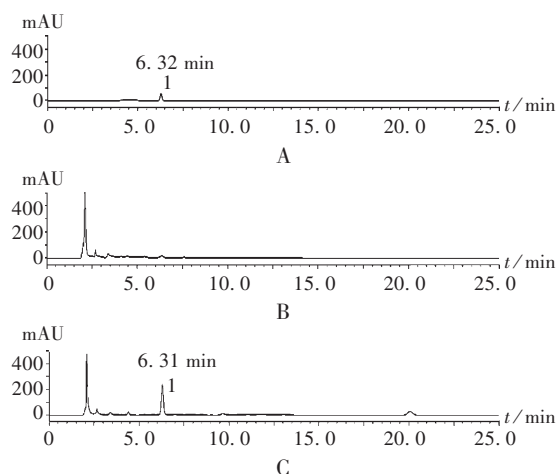
2.2.2 溶液制备

取虎杖苷对照品,置五氧化二磷的干燥器内减压干燥24 h后,取出适量,精密称定,加稀乙醇制成15 μg/mL的溶液,得对照品溶液。取贴剂的1/10,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇25 mL,称量,记录,超声30 min(功率为500 W)后取出,再称量,用稀乙醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。取缺虎杖贴剂的1/10,置具塞锥形瓶中,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:取缺虎杖的阴性对照品溶液,摇匀,注入液相色谱仪,按拟订色谱条件进样10 μL。结果表明,在虎杖苷色谱峰处无干扰,详见图2。

标准曲线绘制:分别精密吸取质量浓度为15 μg/mL



1. 虎杖苷

A. 对照品溶液 B. 阴性对照品溶液 C. 供试品溶液

图2 专属性试验高效液相色谱图

的对照品溶液2, 5, 10, 15, 20 μL进样,以峰面积均值(Y)为纵坐标、进样量(X)为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 2.93X + 3.24$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明,虎杖苷进样量在30~300 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取质量浓度为15 μg/mL的对照品溶

液,按拟订色谱条件连续进样6次。结果峰面积平均值为453.6, *RSD*为0.27% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,于10 h内每隔2 h进样10 μ L。结果峰面积平均值为2 057, *RSD*为2.62% ($n=6$),表明供试品溶液在10 h内稳定性良好。

重复性试验:取贴剂的1/4,加入稀乙醇25 mL,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件测定含量。结果含量平均值为5.66 mg/g, *RSD*为2.93% ($n=5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密取相当于原药材0.04 g的贴剂,平行6份,加入质量浓度为0.21 g/L的对照品溶液1.0 mL,依法制备供试品溶液,测定。结果见表1。

表1 虎杖苷加样回收试验结果($n=6$)

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	<i>RSD</i> (%)
0.04	0.216	0.21	0.416 8	95.62	95.03	0.45
0.04	0.216	0.21	0.416 2	95.33		
0.04	0.216	0.21	0.415 6	95.05		
0.04	0.216	0.21	0.414 9	94.71		
0.04	0.216	0.21	0.415 6	95.05		
0.04	0.216	0.21	0.414 3	94.43		

2.2.4 样品含量测定

取贴剂的1/4,依法制备供试品溶液并测定。结果3批样品(批号分别为150227,150316,150413)虎杖苷含量分别为10.72,10.82,10.82 mg,平均10.79 mg, *RSD*为0.49% ($n=3$)。最终确定成品中虎杖苷的含量应不少于每贴5 mg。

3 讨论

3.1 检测指标选择

2015年版《中国药典(一部)》虎杖药材项下含量测定的检测成分分别为大黄素和虎杖苷,大黄素的药理功效为抗肿瘤活性、抗微生物生长、免疫抑制、解痉止咳、降压、利尿、泻下等^[11-12],虎杖苷的药理功效为镇咳、调血脂、降低胆固醇、抗休克等^[13-14]。虎杖苷的专属性强,其他药材少有含有效成分虎杖苷,同时虎杖苷样品处理简单,处理过程中可减少有效成分的损失,重复性强,故检测指标选用虎杖苷。

3.2 展开剂选择

活血巴布剂中地肤子、天南星、黄柏、地鳖虫的薄层鉴别斑点均显色清晰。其中地肤子中采用药典法时发现展开剂极性较大,通过调整溶剂及比例,最终确定以二氯甲烷-甲醇-水(10:4:1.2)的下层溶液为展开剂时,重复性好,斑点显色清晰。2015年版《中国药典(一部)》中天南星处理方法比较烦琐,处理过程中会增加人

为误差,但样品纯净度较高。

3.3 流动相选择

色谱柱选择十八烷基硅烷键合硅胶作为填充剂,流动相的比例略有变化,选择3个比例分别为乙腈-水(22:78),乙腈-水(23:77)及乙腈-水(24:76)。考虑到图谱中色谱峰的峰形及分离度,确定流动相乙腈-水(23:77)为最佳。

3.4 不足

由于活血巴布剂方中天南星既为有效药味,又为有毒成分^[15],天南星的有毒成分是由其植物中所含有的特殊生物代谢产物草酸钙针晶、草酸钙针晶表面糖蛋白和微量的多糖组成。粉体粒径降低,可破坏天南星科中的草酸钙针晶,降低毒性,但是否会影响活血巴布剂的疗效有待于进一步研究。下一步将对天南星与地鳖虫中有毒成分毒蛋白作进一步研究,并通过相应的药理和毒理试验,以验证活血巴布剂的有效性和毒性。

参考文献:

- [1] 姚丽佳,蒋万浪,沈克拉. 肤痒颗粒薄层色谱鉴别方法[J]. 中国药业,2006,15(7):37.
- [2] 林以慈,何昭斌,孙虹,等. 归芍止痒颗粒质量标准研究[J]. 中华中医药学刊,2014,32(9):2182-2184.
- [3] 马玲玲. 散结止痛巴布剂的质量标准、稳定性和药效学研究[D]. 济南:山东中医药大学,2011.
- [4] 居玲,韩文静,池玉梅. 天南星药典品种黄酮含量测定和鉴别方法的研究[J]. 中成药,2010,32(2):308-311.
- [5] 王丽军,刘丽萍. 黄柏止痒洗剂中黄柏、苦参的薄层色谱鉴别[J]. 陕西中医,2011,32(10):1407-1408.
- [6] 李正国,孙兆伟,刘琳琳. 栀子金花丸中黄连、黄柏薄层鉴别方法研究[J]. 中国药事,2010,24(11):1122-1123.
- [7] 水彩红,曹红. 土鳖虫药材质量标准的提高[J]. 中国医药指南,2014,12(12):69-70.
- [8] 廖芳,张丹,李敏,等. 接骨续筋胶囊薄层色谱鉴别方法研究[J]. 江西中医药,2012,43(6):62-64.
- [9] 黄亮,刘敏敏. HPLC法测定不同地区虎杖的虎杖苷含量[J]. 中国药师,2006,25(5):408-409.
- [10] 罗宏丽,肖顺林,陈昆. 高效液相色谱法测定抑毒调肝合剂中虎杖苷含量[J]. 中国药业,2016,25(20):45-47.
- [11] 马继雄. 大黄素药理作用研究进展[J]. 青海师范大学学报(自然科学版),2011,27(4):48-51.
- [12] 刘静,王丽. 大黄素的研究进展[J]. 中国药房,2014,25(35):3351-3354.
- [13] 王亚运,张琪. 虎杖苷的药理作用研究进展[J]. 医学综述,2017,23(5):989-991.
- [14] 杨博,李蕾,韩彬. 虎杖中虎杖苷的药理研究新进展[J]. 广东化工,2017,44(4):58-60.
- [15] 刘英波,潘年松,莫应明. 天南星的毒性认识及防治研究[J]. 井冈山大学学报(自然科学版),2015,36(3):99-102.

(收稿日期:2018-01-10;修回日期:2018-06-24)