

跌打止痛巴布剂中蛇床子、独活、川芎等药味的鉴别研究

刘新国, 周莉玲*, 郭丽蓉

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

关键词: 巴布剂; 薄层色谱法; 气相色谱法; 鉴别

摘要: 目的: 建立跌打止痛巴布剂中主要药味的鉴别方法。方法: 采用薄层色谱法鉴别制剂中蛇床子、独活、川芎、大黄等主要药味, 采用气相色谱法鉴别制剂中挥发油部分主要药味。结果: 方中蛇床子、独活、川芎等药味特征斑点清晰, 阴性对照无干扰。气相色谱鉴别中各成分峰分离良好, 与相应对照品色谱峰保留时间一致, 阴性对照无干扰。结论: 上述鉴别方法准确可靠, 方法耐用性良好, 可有效控制跌打止痛巴布剂质量。

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 1001-528(2010)12-2186-03

跌打止痛巴布剂是将蛇床子、独活、川芎、大黄等七十七味中药经超临界二氧化碳萃取后, 加入丁香罗勒油、桂皮油等九味挥发油制成的水凝胶型膏贴剂, 具有活血化瘀、消肿止痛、行气止痛、收敛生肌的功效, 对治疗跌打损伤、火伤烫伤、刀伤出血具有显著的作用。本方成分复杂, 药味间相互干扰大, 制剂质量控制难度较大。本实验根据贴膏剂下巴布剂制剂通则, 结合跌打止痛巴布剂自身特点, 采用薄层色谱法和气相色谱法鉴别方中主要药味, 方法简便易行, 准确可靠, 可有效控制制剂质量, 为今后含挥发油膏贴剂型的研究及挥发性成分含量测定提供参考。

1 仪器与试剂

ZF-1 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂), Agilent 6890N 气相色谱仪(安捷伦)及配套工作站, 石英毛细管柱(phenomenex ZB-WAX, 长 30 m, 内径 0.32 mm, 涂层 0.5 μ m)。

蛇床子对照药材(批号 121030-200405)、独活对照药材(批号 120940-200809)、川芎对照药材(批号 120918-200809)、大黄对照药材(批号 120902-200609)、蛇床子素对照品(批号 110822-200406)、大黄酚对照品(批号 110796-200716)、桉油精对照品(批号 110788-200903)、樟脑对照品(批号 747-200606)、薄荷脑对照品(批号 0728-00005)、异龙脑对照品(批号 1512-200201)、龙脑对照品(批号 110881-200202)、水杨酸甲酯对照品(批号 110707-200107)、茴香醛对照品(批号 1545-200001)、桂皮醛对照品(批号 110710-200714)、丁香酚对照品(批号 725-200209), 以上对照药材与对照品均购自中国药品生物制品检定所, 萘(纯度 > 99%, sigma), 其他试剂均为分析纯, 水为纯净水。

跌打止痛巴布剂(广州敬修堂药厂, 批号: 081116、081117、081118, 规格: 10 cm $\times$ 6 cm, 含膏量 6 g/片)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 蛇床子、独活鉴别

2.1.1.1 供试品溶液制备 取本品 5 片, 剪成宽约 1 cm 条带状, 揭去盖衬, 加甲醇 150 mL, 浸渍 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 10 mL, 残渣加水 20 mL, 用乙醚分两次萃取, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。

2.1.1.2 对照药材溶液制备 取蛇床子、独活对照药材各 0.3 g, 分别加无水乙醇 5 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 取续滤液作为对照药材溶液。

2.1.1.3 对照品溶液制备 取蛇床子素对照品, 加无水乙醇制成 1 mL 含 0.1 mg 溶液。

2.1.1.4 阴性对照溶液制备 取缺蛇床子和独活的阴性样品, 同蛇床子、独活供试品溶液制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.1.1.5 照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验 精密吸取上述 4 种溶液各 6 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-甲苯-乙酸乙酯(2:3:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 的硫酸乙醇溶液, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰, 见图 1。

2.1.2 川芎薄层鉴别

2.1.2.1 供试品溶液制备 取本品 10 片, 剪成宽约 1 cm 条带状, 除去盖衬, 加甲醇 300 mL, 浸渍 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 20 mL, 残渣加乙醚 100 mL, 置水浴上回流提取两次, 每次 30 min, 合并乙醚层, 挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。

2.1.2.2 对照药材溶液制备 取川芎对照药材 0.5 g, 加甲醇 25 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 取续滤液作为对照药材溶

收稿日期: 2009-12-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670336, 30371783); 广州市科技攻关计划(200623-E5021)

作者简介: 刘新国(1980-), 男, 博士研究生, 从事中药新剂型与新技术研究工作。Tel: 15920583581 E-mail: lxgdata@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 周莉玲, 女, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: (020) 39358040 E-mail: zhouliling717@sina.com

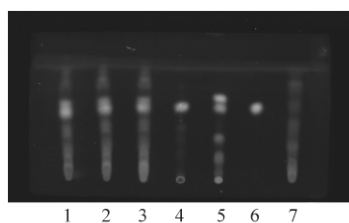


图 1 蛇床子素的薄层鉴别

1. 供试品(081116) 2. 供试品(081117) 3. 供试品(081118)
4. 蛇床子对照药材 5. 独活对照药材 6. 蛇床子素对照品
7. 阴性

液。

2.1.2.3 阴性对照溶液 取缺川芎的阴性样品,同川芎鉴别供试品溶液制备方法,制成阴性对照溶液。

2.1.2.4 精密吸取上述 3 种溶液各 6 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置,显现相同颜色斑点,阴性对照无干扰,见图 2。

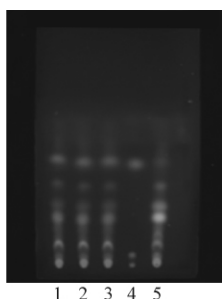


图 2 川芎的薄层鉴别

1. 供试品(081116) 2. 供试品(081117) 3. 供试品(081118)
4. 川芎对照药材 5. 阴性

2.1.3 大黄薄层鉴别

2.1.3.1 供试品溶液制备 取本品 10 片,剪成宽约 1 cm 条带状,除去盖衬,加甲醇 300 mL,浸渍 1 h,滤过,滤液浓缩至 20 mL,残渣加水 90 mL,再加盐酸 9 mL,置水浴上加热 30 min,立即冷却,用乙醚分两次萃取,每次 150 mL,合并乙醚液,挥干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.1.3.2 对照药材溶液制备 取大黄对照药材 0.2 g,加甲醇 20 mL,超声处理 20 min,滤液挥干,残渣加水 10 mL 溶解,再加盐酸 1 mL,加热回流 30 min,立即冷却,用乙醚分两次萃取,每次 20 mL,合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为对照药材溶液。

2.1.3.3 对照品溶液制备 取大黄酚对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.3.4 阴性对照溶液制备 取缺大黄的阴性样品,同大黄鉴别供试品溶液制备方法处理,制成大黄阴性对照溶液。

2.1.3.5 精密吸取上述 4 种溶液各 6 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 板上,以正己烷-乙酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气饱和展开槽

中显色至斑点清晰,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应位置上,显相同颜色斑点,阴性对照无干扰,见图 3。

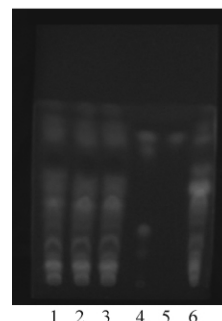


图 3 大黄的薄层鉴别

1. 供试品(081116) 2. 供试品(081117) 3. 供试品(081118)
4. 大黄对照药材 5. 大黄酚对照品 6. 阴性

2.1.4 薄层鉴别方法耐用性考察

2.1.4.1 不同薄层板的比较 以上 3 个薄层鉴别试验,以羧甲基纤维素钠为黏合剂手铺硅胶 G 薄层板鉴别效果均优于预制硅胶 G 板。

2.1.4.2 不同湿度的比较 取点样后的薄层板分别于湿度 22% 和 75% 的层析缸中展开,显色,检视。结果表明在相对湿度 22% ~ 75% 之间,鉴别效果均无明显变化。

2.1.4.3 不同温度的比较 取点样后的薄层板分别在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下展开,显色,检视。结果表明在 4 $^{\circ}\text{C}$ ~ 30 $^{\circ}\text{C}$ 温度范围内对鉴别效果均无明显影响。

2.2 气相色谱鉴别

2.2.1 混合对照品贮备液的制备 精密称取桉油精、樟脑、薄荷脑、异龙脑、龙脑、水杨酸甲酯、茴香醛、桂皮醛、丁香酚对照品适量,加无水乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,即得。

2.2.2 内标溶液 取萘适量,精密称定,加无水乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,摇匀,即得。

2.2.3 混合对照品溶液的制备 精密量取混合对照品贮备液和内标溶液各 250 μL ,至 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 供试品溶液 取跌打止痛巴布剂 5 片(含药膏 30 g),剪成 1 cm 宽小条,去除盖衬,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加水 500 mL,连接挥发油提取器,自提取器上端加水使充满刻度,并溢流入烧瓶为止。连接回流冷凝管,加热回流 5 h,放冷,分取油层,用铺有无水硫酸钠的漏斗滤过,精密称定重量。从中精密称取挥发油 100 μg ,加入内标溶液 250 μL ,无水乙醇稀释至 10 mL,摇匀,即得。

2.2.5 阴性对照溶液制备 取缺桉油、樟脑、薄荷油、冰片、水杨酸甲酯、八角茴香油、桂皮油、丁香罗勒油的阴性样品,按供试品溶液相同方法处理,制成溶液。

2.2.6 色谱条件 以石英毛细管柱为色谱柱,柱温为程序升温,80 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min 后开始升温,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 140 $^{\circ}\text{C}$,保持 8 min,再以 12 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$;进样口温度为 210 $^{\circ}\text{C}$;检测器为氢火焰离子化检测器(FID),温度为 245

℃;载气为高纯氮气,流速:1 mL/min;进样量为 1 μL;分流比 40:1;理论板数按丁香酚峰计算不低于 50 000。

按上述色谱条件,分别取供试品溶液、混合对照品溶液、阴性对照溶液 1 μL 进样测定,采用相对保留值法进行色谱峰的指认。从结果可以看出,各指标峰之间分离良好,供试品溶液相对保留时间与对照品溶液相对保留时间出现相应特征峰,阴性对照无干扰。色谱图见图 4~图 6。

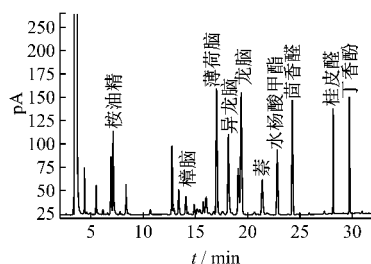


图 4 供试品溶液色谱图

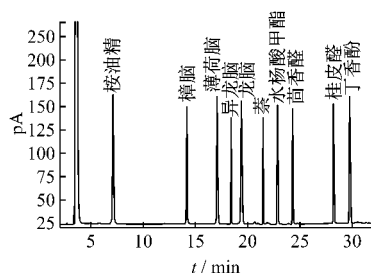


图 5 混合对照品溶液色谱图

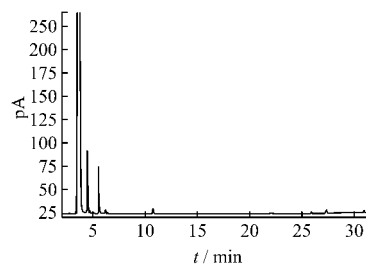


图 6 阴性对照溶液色谱图

而跌打止痛巴布剂所采用超临界二氧化碳萃取技术主要是针对极性较小成分进行萃取,薄层色谱图中虽未发现大黄酚以外大黄成分,但鉴别结果并无干扰,且试验结果与采用《中国药典》大黄鉴别方法所得结果一致,因此采用上述方法鉴别方中大黄成分还是可行的。

3.2 在挥发性成分气相色谱鉴别过程中,供试品溶液制备曾采用甲醇冷浸法提取,提取液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后直接作为供试品溶液。但这种浸提方法所得供试液体积大,杂质成分多,巴布剂基质中甘油也被一并提出,影响色谱柱寿命,给气相分离带来很大困难,故未予采用。

3.3 内标物的选择,曾尝试用正十六烷、环己酮作内标,由于色谱峰分离效果和保留时间差异等原因未予采用。

本研究不仅在同一气相色谱条件下鉴别出跌打止痛巴布剂中多个挥发性成分,更重要是为外用膏贴剂中挥发性成分含量测定提供合适的内标物和方法学的参考。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005:附录 57.
- [2] 孟舒,陈再兴,姜泓,等. 玄丹巴布剂质量标准研究[J]. 中国现代应用药学杂志,2007,24(5):394-396.

3 讨论

3.1 按 2005 版《中国药典》收载大黄药材薄层鉴别项目,365 nm 紫外光下应检视到五个暗红色斑点,按 R_f 值从小到大依次为芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、大黄酚。

对藏药四味雪莲花颗粒中含量测定方法的改进

张秀峰

(青海省药品检验所,青海 西宁 810000)

关键词:四味雪莲花颗粒;大黄素;大黄酚;RP-HPLC

摘要:目的:建立四味雪莲花颗粒中大黄素、大黄酚的含量测定方法。方法:采用 RP-HPLC 法,用 Hypersil-ODS C_{18} (250 mm×4.6 mm,5 μm) 色谱柱,以甲醇-0.1% 磷酸溶液(80:20) 为流动相,检测波长:254 nm,流速:1 mL/min。结果:在此色谱试验条件下,大黄素进样量在 0.003 176~0.031 76 μg 范围内与峰面积呈线性关系,平均加样回收率为 98.1%,RSD=2.1% ($n=9$)。大黄酚进样量在 0.004 41~0.044 1 μg 范围内与峰面积呈线性关系。平均加样回收率为 98.9%,RSD=2.3% ($n=9$)。结论:方法简单,准确,灵敏,能有效控制四味雪莲花颗粒的质量。

中图分类号:R927.2

文献标识码:B

文章编号:1001-1528(2010)12-2188-03

收稿日期:2010-03-30

作者简介:张秀峰(1957-),女,药师,研究方向:药物分析。Tel:13997385256 E-mail:344671295@qq.com