

维吾尔药养心达瓦依米西克蜜膏的质量标准

沙拉麦提·艾力*, 王亚丽, 苏来曼·哈力克
(新疆维吾尔自治区食品药品检验所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 建立养心达瓦依米西克蜜膏的质量标准。方法: 采用 TLC 法对方中西红花、肉桂进行定性鉴别, 并用 RP-HPLC 法测定西红花中西红花苷 I 的含量; 采用 Luna C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-水 (45:55) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 440 nm, 进样量 10 μL。结果: 薄层鉴别专属性强, 分离效果好。西红花苷 I 在 0.019 2 ~ 0.153 6 μg 呈良好的线性关系 (r = 0.999 9), 平均回收率为 98.7% (n = 6), RSD 1.51%。结论: 方法简便、准确、重复性好, 可作为养心达瓦依米西克蜜膏的质量控制方法。

[关键词] 养心达瓦依米西克蜜膏; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 西红花; 肉桂; 西红花苷 I

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0108-04

[doi] 10.11653/syjf2013140108

Study on Quality Control of Uyghur Medicine Preparation Yangxin Dawayi Mixike Migao

SHA La Maiti · Ai-li*, WANG Ya-li, SU Ley-man · Ha-lik

(Xinjiang Uyghur Autonomous Region Institute for Food and Drug Control, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the quality standard of Yangxin Dawayi Mixike Migao. **Method:** The TLC method was used for the qualitative identification of Stigma Croci and Cortex Cinnamomi in the formula. The content of crocin-I in Yangxin Dawayi Mixike Migao was determined simultaneously by RP-HPLC method with a Luna C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol-water (45:55); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 440 nm, and the column temperature was set at 35 °C.

[收稿日期] 20120227(033)

[基金项目] 国家药典会国家药品(维药)标准提高项目(799)

[通讯作者] * 沙拉麦提·艾力, 副主任药师, 从事维吾尔药材及制剂质量研究, Tel: 0991-2305956, E-mail: sala001@sina.com

- [5] 陈丽娟. 散结镇痛胶囊治疗子宫内异位症腹腔镜术后疗效观察[J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(11):57.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准[WS₃-232(Z-38)-2009(Z)]散结镇痛胶囊[S]. 2009.
- [7] 胡迎庆, 宫飙, 屠鹏飞. 龙血树属植物化学成分及生物活性研究进展[M]. 国外医药:植物药分册, 2000, 15(1):5.
- [8] 张天宝, 吕静慈, 雍克岚, 等. 广西龙血竭中几种化学成分对血小板聚集影响的初步研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4):695.
- [9] 张凡, 马全顺, 陈素, 等. 龙血素 B 对三叉神经节河豚毒素不敏感型钠通道电流的调制作用[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(6):947.
- [10] 王灿, 陈素, 刘向明. 龙血素 B 抑制大鼠背根神经节细胞辣椒素诱发的电流反应[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(2):211.
- [11] 李云, 萧伟, 秦建平, 等. HPLC 测定龙血竭提取物中龙血素 A、B 和 7,4'-二羟基黄酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3):45.
- [12] 李忠琼, 向东. HPLC 测定龙血竭中龙血素 A 和龙血素 B 的含量[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(4):348.
- [13] 胡迎庆, 付勇, 张庆云. RP-HPLC 测定龙血竭胶囊中龙血素 A 和 B 的含量[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(2):112.

[责任编辑 顾雪竹]

Result: The identification study showed strong specificity. The linear relationship was good. The linear response ranged from 6.04 μg to 45.3 μg for crocin-I and the average recovery was 98.7% with RSD 1.51%. **Conclusion:** The methods were simple, accurate and with a good reproducibility, and can be used for the quality control of the drug.

[**Key words**] Yangxin Dawayi Mixike Migao; quality standards; TLC; Stigma Croci; Cortex Cinnamomi; RP-HPLC; crocin-I

养心达瓦依米西克蜜膏收载于《卫生部药品标准-维吾尔药分册》(1998年)^[1],是由麝香、西红花、珍珠、檀香、紫檀香等26味药材组成的维吾尔医古方制剂。本品具有开通阻滞、通便止痛之功效,临床用于热性头痛、便秘、瘙痒及关节疼痛等。原质量标准中仅有通则项目,不能够有效的控制产品质量。本试验采用TLC法对方中的西红花和肉桂进行鉴别。西红花为贵重药材,具有活血化瘀、凉血解毒、解郁安神的作用,其西红花苷I为西红花的主要活性成分,采用高效液相色谱法测定西红花苷I的含量。

1 材料

养心达瓦依米西克蜜膏(批号20100202, 20100337, 20100339, 20100415, 20100522, 20100523, 20100621, 20100712, 20100802, 20100806,由新疆企业A提供)。西红花苷I对照品(批号110831-200302,供含量测定用),桂皮醛(批号111710-200513,供含量测定用),西红花对照药材(批号121198-200301),肉桂对照药材(批号121363-200401)均购于中国药品生物制品检定研究院。

岛津LC-20AT型高效液相色谱仪(包括SPD-M10A二极管阵列检测器、SIL-20A自动进样器、CTO-10AS柱温箱、LC Solution色谱工作站),Sartorius CPA225D型(1/10万)电子分析天平(德国赛多利斯公司),AE200型(1/万)电子分析天平(瑞士梅特勒托雷多公司),KLZ-UP型超纯水仪(台湾艾柯成都康宁实验专用纯水设备厂),定量毛细管(美国Drummond Scientific Company),CAMAG REPROSTAR3型薄层色谱成像系统(瑞士CAMAG公司)。

薄层色谱硅胶G,(预制板,中国青岛海洋化工集团公司出品),甲醇为色谱纯(美国Fisher公司),水为超纯水KLZ-UP超纯水仪(台湾艾柯成都康宁实验专用纯水设备厂),其他化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 西红花的薄层色谱鉴别 取本品10g,加硅

藻土5g,研匀,加20mL搅拌,转移至离心管,离心10min(转速4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),弃去上清液,沉淀加浓氨试液5mL润湿;加无水乙醇30mL超声处理30min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取西红花对照药材2g,加无水乙醇20mL,超声处理30min,过滤,滤液作为对照药材溶液。另取缺西红花的阴性样品,同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照《中国药典》2010年版一部附录VI B薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各10 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(4:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,日光下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。

2.1.2 肉桂的TLC鉴别 取本品约30g,置500mL圆底烧瓶中,加水100mL,连接挥发油测定器,自测定器上端加水使充满刻度部分,并溢流入烧瓶为止,再加入环己烷2mL,连接回流冷凝管,加热回流1h,放冷,分取环己烷液,作为供试品溶液。另取肉桂对照药材2g,同法制成对照药材溶液。再取桂皮醛对照品适量,加乙醚制成1mL含1 μg 溶液,作为对照品溶液。另取缺肉桂的阴性样品,同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述4种溶液各10 μL ,照《中国药典》2010年版一部附录VI B薄层色谱法试验,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯(20:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯胍乙醇试液,置于105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Luna C₁₈色谱柱(4.6mm \times 250mm,5 μm),流动相甲醇-水(45:55),检测波长440nm,流速1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温35 $^{\circ}\text{C}$,检测波长440nm,进样量10 μL 。

2.2.2 对照品溶液的制备 取西红花苷I对照品适量,精密称定,加稀乙醇制成每1mL含15 μg 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 350 W,频率 59 kHz) 35 min,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备缺西红花药材的阴性样品,同 2.2.3 项下的方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批号(批号 20100202,含西红花苷 I 0.192 g·L⁻¹)样品 1 g,共 6 份,分别置 25 mL 量瓶中。精密加入西红花苷对照品(0.191 6 g·L⁻¹) 1 mL,再按 2.2.3 项下的方法制备,计算回收率,结果平均回收率 98.7%,RSD 1.5%,见表 1。

表 1 西红花苷加样回收试验

No.	取样量 /g	样品 含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	1.108 0	0.212 7	0.402 1	98.85	98.7	1.5
2	1.104 7	0.212 1	0.400 0	98.07		
3	1.059 2	0.203 4	0.394 3	99.63		
4	1.050 1	0.201 6	0.385 5	95.98		
5	1.055 8	0.202 7	0.393 5	99.58		
6	1.043 1	0.200 3	0.391 9	100.00		

注:加入量均为 0.191 6 mg。

2.2.6 精密度 精密吸取同一供试品溶液,重复进样 6 次,记录西红花苷 I 峰面积值,RSD 1.72%,结果表明精密度良好。

2.2.7 重复性 取同一批供试品,照 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,分别测定。结果西红花苷 I 的平均质量浓度为 0.192 mg·g⁻¹,RSD 1.13%,测定结果表明重复性良好。

2.2.8 专属性 分别吸取供试品溶液,西红花苷 I 对照品溶液及阴性对照溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,结果表明处方中其他组分对西红花苷 I 的测定无干扰,见图 1。

2.2.9 检测限和定量限 取西红花苷 I 对照品溶液,不断稀释,当噪音比为 S/N 约为 3 时,稀释浓度为 18.36 g·L⁻¹,西红花苷 I 的最低检出限约为 18.36 g·L⁻¹。当噪音比为 S/N 约为 10 时,最低检出量为 55.08 g·L⁻¹。西红花苷 II 对照品低于此限,不能检测到,故只测定西红花苷 I 的含量。

2.2.10 线性 精密称取西红花苷 I 对照品 9.6

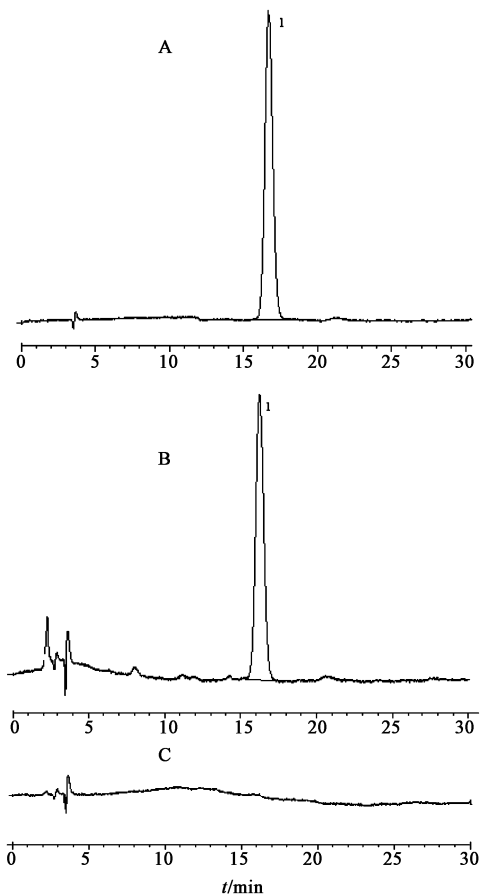


图 1 养心达瓦依米西克蜜膏 HPLC 色谱图
A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 西红花苷 I

mg,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,制成 0.192 g·L⁻¹的储备溶液。精密吸取该储备溶液 1.0,2.0,4.0,6.0,8.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取 10 μL 分别注入液相色谱仪,以对照品的进样量 X(μg)对峰面积的积分值 Y 进行线性回归,回归方程为 Y = 50 006X + 8 585.9(r = 0.999 9)。结果表明西红花苷 I 对照品在 0.019 2 ~ 0.153 6 μg 呈良好的线性关系。

2.2.11 稳定性 精密吸取同一供试品溶液,于 0,3,6,9,12,15 h 依法测定西红花苷 I 的峰面积,西红花苷 I 的 RSD 1.06%,表明供试品溶液在 15 h 内稳定。

2.2.12 样品含量测定 分别取 10 批养心达瓦依米西克蜜膏,照 2.2.3 项下制备供试品溶液及 2.2.1 项下的色谱条件下测定,结果见表 2。

3 讨论

在西红花薄层色谱鉴别试验中分别以① 乙酸乙酯-甲酸-水(4:1:1);② 乙酸乙酯-甲酸-水(8:2:1);

表2 养心达瓦依米西克蜜膏中西红花苷含量测定($n=3$)

样品批号	西红花苷 I /g·kg ⁻¹	RSD/%
20100806	0.16	0.88
20100202	0.19	0.68
20100337	0.16	0.71
20100339	0.20	0.81
20100415	0.20	0.62
20100522	0.19	0.55
20100523	0.19	0.75
20100621	0.23	0.83
20100712	0.25	0.91
20100802	0.20	0.65

③ 乙酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4);④ 正己烷-正丁醇-80%乙醇-醋酸(4:12:8:1)等不同的4个系统作为展开剂展开15 cm^[2-3],结果以乙酸乙酯-甲酸-水(4:1:1)为展开剂的斑点清晰,稳定,重复性好,阴性对照溶液无干扰,故选用此展开剂为本制剂处方中西红花的鉴别。

本实验在制备供试品时曾比较不同提取溶剂(30%乙醇,稀乙醇,70%乙醇,乙醇,甲醇)和不同提取时间(15,25,35,45,55 min)对所得含有量的影响,结果以稀乙醇为提取溶剂,超声提取35 min时所得含有量最大,故在此条件下提取供试品。

色谱条件《中国药典》2010年版一部及相关文献报道^[2,4,9],《中国药典》2010年版一部收录的西红花和仁青常觉均采用C₁₈柱,以甲醇-水(45:55)为流动相,检测波长440 nm测定西红花苷I的含量,在此条件下考察不同温度(25,30,35,40,45℃)对出峰时间,分离度,杂质出现情况和峰型的影响,最后确定柱温为35℃,在该条件下,各峰与杂质峰分离良好,峰型对称而尖锐,西红花苷I色谱峰保留时间适宜,峰形较好并达到较好的基线分离,阴性对照无干扰,结果满意。

本制剂原质量标准简单,无薄层色谱鉴别及含量测定项,不能够有效的控制产品质量。通过本制剂质量标准研究,增加了2项薄层色谱鉴别及处方中贵重药材西红花的含量测定进一步提高了本制剂质量的可控性。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 卫生部药品标准-维吾尔药分册[S]. 北京:中国标准出版社, 1998:174.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:120, 409, 573.
- [3] 赵焯慧,齐曼丽,刘德旺. 通滞苏润江胶囊中番泻叶、诃子、西红花的TLC鉴别研究[J]. 中国民族医药杂志,2007, 4(5):52.
- [4] 何常明,谢晓梅. 西红花中西红花苷I和西红花苷II含量测定的建立[J]. 药物分析杂志 2006, 26(9):1270.
- [5] 孙玉华,杨真. 西红花的研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志,2000, 45:215.
- [6] 邢桂荣,潘晖. 芪归合剂中3种药材的鉴别及芍药苷的测定[J]. 华西药学杂志, 2012, 27(2):204.
- [7] 李伟平,张云,丁志山. 西红花的研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2011, 25(3):55.
- [8] 战峰,李超,韩泳平. 回归正交设计优化西红花苷的提取工艺[J]. 中国现代应用药学,2011,28(8):729.
- [9] 李顺旭,杨大坚,李荣东,等. 高效液相色谱梯度洗脱法测定不同中国产西红花药材中西红花苷I、II的含量[J]. 中南药学, 2010, 12(8):886.
- [10] 戴敬,杨晓婧,郝培培,等. 女金丸薄层色谱鉴别方法研究[J]. 中成药, 2012, 32(11):2021.
- [11] 杨再波,吕頔. 黔产肉桂叶片和皮中香味化学成分分析[J]. 广东化工, 2011, 7(38):14.
- [12] 刘月,谢敏,吴春敏. 不同产地肉桂HPLC指纹图谱研究及桂皮醛含量分析[J]. 海峡药学, 2012, 24(4):59.
- [13] 王浩江,白克华,孙体健. 壮骨解毒丸质量标准的研究[J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(4):273.
- [14] 张启云,李冰涛,徐国良,等. 肉桂水提物对正常大鼠尿液代谢物组的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17):164.
- [15] 黄宏妙,郭占京,蒋凌风,等. 肉桂水提液对全脑缺血再灌注损伤大鼠MAO和CAT的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):159.
- [16] 李芳,杜升旗,王卫锋. 固精麦斯哈胶囊质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(12):90.

[责任编辑 顾雪竹]