

瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 的质量控制方法

王硕^{1,2}, 袁经权^{1,3}, 龚小妹^{1,4}, 樊溪源¹, 周小雷^{1*}

(1. 广西药用植物研究所姚新院士重点实验室, 南宁 530023; 2. 广西医科大学, 南宁 530031;
3. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广州 510632; 4. 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 的质量控制方法。方法: 对方中主要瑶药钩吻和两面针进行薄层图谱鉴定; 采用高效液相色谱法, 乙腈-甲醇-水(4:56:240), 磷酸 0.3%, 三乙胺 0.5%, 检测波长 230 nm, 柱温 25 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 测定处方中主要镇痛成分钩吻素子的含量。结果: 在薄层色谱图谱中均能检出瑶药钩吻和两面针; 钩吻素子在 0.199 2~3.187 2 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 98.41%, RSD 1.408 6% ($n=6$)。结论: 所建立的方法稳定可靠, 可以有效控制该制剂的质量。

[关键词] 瑶药风湿骨痛喷雾剂 I; 薄层色谱; 高效液相色谱法; 钩吻素子

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0081-03

Study of Quality Control Methods for Rheumatism Ostalgia Spray I

WANG Shuo^{1,2}, YUAN Jing-quan^{1,3}, GONG Xiao-mei^{1,4}, FAN Xi-yuan¹, ZHOU Xiao-lei^{1*}

(1. Key Laboratory of Academician YAO Xin-sheng Guangxi, Institute of Guangxi Medicinal Plant, Nanning 530023, China; 2. Guangxi Medical University, Nanning 530023, China;
3. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632, China;
4. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Rheumatism ostalgia Spray I. **Method:** TLC was used in qualitative identification of *Gelsemium elegans* and *Zanthoxylum nitidum*. And HPLC was used for assay of koumine in the preparation. **Result:** *G. elegans* and *Z nitidum* were detected by TLC. Koumine had a good linear relationship within the range of 0.199 2-3.187 2 μg ($r=0.999\ 7$). The average recovery was 98.41%, and the RSD was 1.409%. **Conclusion:** The method established is stable and reliable. It can be used for quality control of the preparation.

[Key words] Rheumatism ostalgia spray I; TLC; HPLC; koumine

瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 是在广西金秀县瑶医医院老瑶医的经验效方基础上, 结合现代制剂技术研制而成的。主要由钩吻、两面针、九节风、木鳖子等常用瑶药组成, 药材均采自高寒大瑶山, 组分独特、疗效显著, 具有祛风除湿、温阳散寒、通络止痛的功

能, 主要用于肢体关节疼痛、痛无定处以及骨质增生等症。其中钩吻又名大茶叶、大茶药、断肠草等, 为马钱科植物断肠草(胡蔓藤)的根和叶^[1], 外用具有祛风散瘀、消肿止痛的功能。现代药理表明, 其生物碱钩吻素子具有镇痛作用^[2]。两面针为芸香科植物光叶花椒的根、茎, 性辛、苦、微温, 有小毒, 用于风湿痹痛、坐骨神经痛等多种病症^[3]。现代研究证明, 两面针具有抗炎镇痛等作用。氯化两面针碱是两面针的主要有效成分, 是两面针及其制剂的主要质量控制指标成分。为了有效地控制该制剂的质量, 本文参考有关文献^[4]对钩吻、两面针进行 TLC 鉴别, 用高效液相色谱法对钩吻的主要镇痛成分钩吻素子进行含量测定, 为更好地控制该产品质量提供依据。

[收稿日期] 20110426(003)

[基金项目] 桂科产资助课题(0632005-1); 广西壮族自治区卫生厅课题(GZYZ-10-30)

[第一作者] 王硕, 助理研究员, 博士生, 从事中药药理和新药开发, Tel:0771-2443136, E-mail:ws428@163.com

[通讯作者] *周小雷, 助理研究员, 硕士, 从事药物分析学, Tel:0771-2443136, E-mail:zhouxiolei123@163.com

1 材料

1.1 仪器 210 型高效色谱仪(美国 VARIAN 公司), KQ-5200 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), CP2250D 型电子分析天平(Sartorius 公司), Milli-Q Academic 型超纯水制备器(美国 Millipore)。

1.2 试药 瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 为自制, 钩吻素子对照品(上海同田生物技术有限公司, 批号 E-0308), 氯化两面针对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110848-200502), 硅胶板(青岛海洋化工厂分厂), 甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司), 其他试剂为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 断肠草的鉴别 取本品为供试品溶液, 另取断肠草药材适量, 粉碎, 同法制成药材溶液。再按处方比例称取除断肠草外各药材, 同法制成缺断肠草阴性对照液。另取钩吻素子对照品, 加甲醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 mL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-氨水(5:0.3:0.03)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以碘化铯钾溶液显色, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 分别显示相同颜色的斑点, 阴性对照品无相应的斑点。

2.2 两面针的鉴别 取本品为供试品溶液。另取两面针药材适量, 粉碎, 同法制成药材溶液。再按处方比例称取两面针外各药材, 同法制成缺两面针阴性对照液。另取氯化两面针碱对照品, 加甲醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-氨水(5:0.4:0.03)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 分别显示相同颜色的荧光斑点, 阴性对照品无相应的荧光斑点。

3 瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 中钩吻素子的含量测定

3.1 色谱条件 BDS C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-甲醇-水(4:56:240), 磷酸 0.3%, 三乙胺 0.5%, 检测波长 230 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量体积 10 μL 。

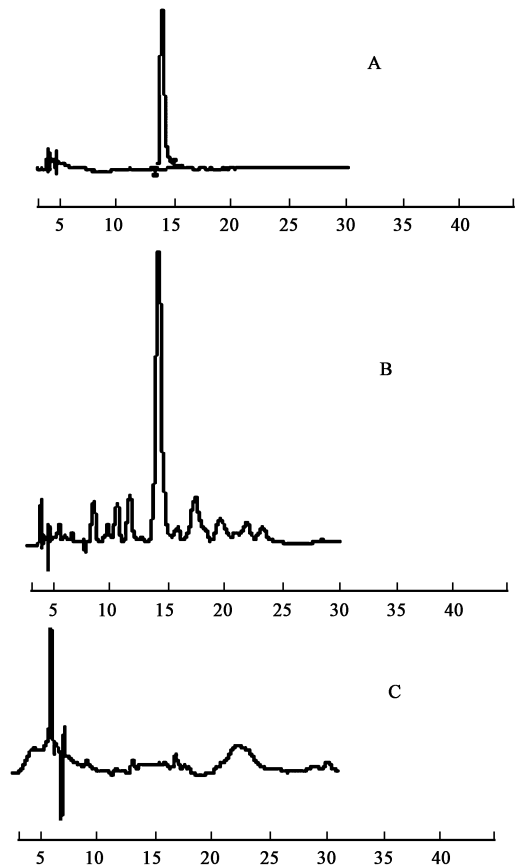
3.2 对照品溶液的制备 精密称取钩吻素子对照品适量, 加色谱甲醇溶解, 摇匀, 制成 0.996 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, 作为对照品液储备液。

3.3 供试品溶液的制备 精密量取 1 mL 喷雾剂液

体, 置于蒸发皿中挥干溶剂, 残渣用 0.1% 的盐酸水 30 mL 溶解, 氨水调 pH 9, 然后用 90 mL 氯仿萃取(分 3 次, 每次 30 mL), 合并氯仿液体, 回收氯仿, 残渣用色谱甲醇转溶并定容于 10 mL 量瓶, 以 0.45 μm 的微孔滤膜过滤即得。

3.4 阴性对照溶液的制备 按制备工艺制备不含断肠草药材的阴性样品, 再按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

3.5 系统适应性试验 在选定的色谱条件下, 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 结果供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 而阴性对照在此保留时间无干扰(图 1)。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 钩吻素子

图 1 风湿骨痛喷雾剂 I HPLC

3.6 线性关系考察 精密吸取一定量钩吻素子对照品储备液, 分别配得不同浓度的对照品液 0.049 8, 0.099 6, 0.199 2, 0.394 8, 0.597 2, 0.796 8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 摇匀后以 0.45 μm 的滤液微孔滤膜过滤, 分别进样 10 μL , 按 3.1 色谱条件测定峰面积, 以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归, 得标准曲线方程为 $Y = 94.36 X + 3.09$ ($r = 0.9997$)。结果表明钩吻素子

对照品进样量在0.199 2 ~ 3.187 2 μg 进样量与峰面积之间有良好的线性关系。

3.7 精密度试验 取批号为 20100514 的样品,制备供试品液,微孔滤膜滤过,进样 10 μL ,测定峰面积, RSD 0.938 8% ($n = 6$),表明仪器的精密度良好。

3.8 重复性试验 取批号为 20100514 的样品,精密称定 6 份,制备供试品溶液,进样 10 μL ,按 **3.1** 色谱条件测定, RSD 1.992 2%,平均含量 0.051 6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3.9 稳定性考察 精密吸取 20100514 供试品溶液,于 0,2,4,6,8,12 h 进样 10 μL ,按 **3.1** 色谱条件测定峰面积,计算 RSD 1.465 2%。结果表明,供试品溶液在 12 h 内稳定。

3.10 回收率试验 采用加样回收法。精密量取批号为 20100514 样品 3 mL,再精密加入 1.6 mL 钩吻素子对照品溶液(0.099 6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),混合摇匀,进样 10 μL ,测定,结果平均回收率为 98.41%, RSD 1.4086% ($n = 6$),见表 1。

表 1 钩吻素子加样回收率试验

No.	加入量 / μg	样品中量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.346 4	0.336 5	0.682 2	99.80	98.41	1.408 6
2	0.346 4	0.336 5	0.681 4	99.60		
3	0.346 4	0.336 5	0.670 3	96.36		
4	0.346 4	0.336 5	0.680 7	99.36		
5	0.346 4	0.336 5	0.675 6	97.78		
6	0.346 4	0.336 5	0.674 6	97.54		

3.11 样品测定 取 5 批样品,制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液 10 mL,按 **3.1** 色谱条件及测定方法测定,结果见表 2。

4 讨论

4.1 钩吻素子的含量测定 钩吻为瑶药风湿骨痛喷雾剂的君 I 药,钩吻素子为其主要镇痛成分之一,但目前未见有关钩吻素子的含量测定文献报道,高效液相法具有操作简便,结果准确可靠等优点,本实

表 2 瑶药风湿骨痛喷雾剂 I 中钩吻素子含量测定 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

批号	钩吻素子
20100413	0.055 8
20100423	0.049 7
20100514	0.051 6
20100519	0.050 5
20100621	0.049 6

验经过多次选择条件,最后采用乙腈-甲醇-水(4:56:240),磷酸 0.3%,三乙胺 0.5% 作为流动相。曾经采用乙腈-甲醇-水(10:50:240),磷酸 0.3%,三乙胺 0.45%、乙腈-甲醇-水(30:30:240),磷酸 0.3%,三乙胺 0.55%、乙腈-甲醇-水(40:20:240),磷酸 0.3%,三乙胺 0.6% 作为流动相,但是有峰前沿或拖尾的现象。本研究在多次预实验的基础上进行对钩吻素子的含量测定,结果稳定,切实可行,为制剂的质量控制提供科学依据。

4.2 供试样品制备方法的考察 曾采用直接吸取样品进行挥干溶剂,色谱纯甲醇溶解定容,过滤后进行测定,结果在相同色谱条件本法测定峰有干扰,最后 **3.3** 项进行制备,峰无干扰,分离度好,结果可靠。

4.3 展开剂的选择 在鉴别钩吻和两面针时,本文曾经以氯仿-甲醇(5:0.3),氯仿-丙酮-甲醇(6:1.6:1),石油醚-乙酸乙酯-甲醇(7:2:1)做展开剂,但展开效果均不好,而钩吻以氯仿-甲醇-氨水(5:0.3:0.03)、两面针以氯仿-甲醇-氨水(5:0.4:0.03)为展开剂时,斑点分离好,且无拖尾现象。

[参考文献]

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物科属检索表[M]. 北京:科学出版社,1979:333.
- [2] 迟德彪,雷林生,杨鸿轩,等. 钩吻素子注射液低剂量对犬的心率无影响[J]. 第一军医大学学报,2004,24(1):40.
- [3] 戴斌. 中国现代瑶药[M]. 南宁:广西科技出版社,2009:1.
- [4] 陈卫卫,刘华钢. 复方鼻炎喷雾剂的质量标准研究[J]. 中成药,2005,27(9):1018.

[责任编辑 蔡仲德]