

瑶药“产后三泡”的质量控制研究

宋志钊^{1,2},文志云^{1,2},张颖^{1,2},刘元^{1,2}

(1. 广西壮族自治区中医药研究院中药所,广西 南宁 530022;

2. 广西中药质量标准研究重点实验室,广西 南宁 530022)

摘要:**目的** 建立瑶药产后三泡的质量控制方法。**方法** 采用薄层鉴别法(TLC)对制剂中四方藤药材进行鉴别,采用高效液相色谱法(HPLC)测定处方中四方藤的岩白菜素含量。**结果** 在四方藤薄层色谱图中斑点清晰,重现性好,无干扰。采用HPLC法测出在 $9.72 \sim 155.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,岩白菜素对照品浓度与其色谱峰峰面积呈正比关系($r=0.9999$),平均回收率96.4%,RSD为1.11%($n=6$)。**结论** 建立的质量标准可控制瑶药产后三泡浴剂的质量。

关键词:瑶药;产后三泡;四方藤;岩白菜素

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2016.10.008

Quality control standards of Yao Medicine Chanhou Sanpao

SONG Zhizhao^{1,2}, WEN Zhiyun^{1,2}, ZHANG Ying^{1,2}, et al

(1. Guangxi Institute for Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi 530022, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi 530022, China)

Abstract:**Objective** To set up quality control standards for Yao Medicine Chanhou Sanpao. **Methods** Cissus pteroclada Hayata was identified qualitatively by TLC methods while bergenin content was determined by HPLC method. **Results** The TLC figures were distinct and reproducible with noninterference, and the calibration curves were linear in the range of $9.72 \sim 155.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for Bergenin ($r=0.9999$). The average recovery of bergenin was 96.4% and RSD was 1.11% ($n=6$). **Conclusions** The quality of Yao Medicine Chanhou Sanpao was effectively controlled by these quality standards.

Key words: Yao Medicine; Chanhou Sanpao; Cissus pteroclada Hayata; Bergenin

瑶族民间流行着生产后3 d坐泡,7 d就可下地干活,药浴坐泡是瑶族人民在生产、生活中形成的特色医药文化代表之一。“产后三泡”就是其中一种具有代表性的组方,由于瑶族没有文字记载,没有专门的典籍,仅依靠世代口口相传、口传心授,没有统一的质量标准。金秀瑶族自治县瑶医医院与广西壮族自治区中医药研究院联合开发“产后三泡”医院制剂,是广西第一个民族药瑶药医疗机构制剂^[1],由走马胎、四方藤、肿节风、飞龙掌血茎等11味民族药材组成,具有祛风活血,行气止痛之功效,瑶医用于防治莹拉崩(产后风)。为了有效控制产后三泡浴剂的质量,对其质量标准进行了研究。

1 仪器与试剂

紫外分析摄影仪(武汉药科新技术开发公司

基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(桂科重12118005-1-4)

作者简介:宋志钊,男,副研究员,研究方向:质量标准与新产品的开发研究,E-mail:Songzhizhao1978@aliyun.com

通信作者:刘元,女,主任药师,研究方向:中药药理及新药研制开发,E-mail:liuyuan0821@vip.163.com

YOKO-ZS型);高效液相色谱仪(日本岛津LC-20ATVP/SPD-20AVP),广西威玛龙工作站及软件5.23版;超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司KQ-100VDB型);万分之一电子天平(梅特勒-托利多AL-104型);薄层层析硅胶G板,青岛海洋化工有限公司产品。

四方藤对照药材(批号:20100321,产地:广西防城,由广西中医药研究院黄云峰同志采集,经广西壮族自治区食品药品检定所鉴定);岩白菜素对照品(批号:111532-201203,每支30 mg,含量按94.4%计),购自中国药品生物制品检定院;产后三泡浴剂(批号:131008,131009,131010,贵港市冠峰制药有限公司,每袋490 g生药);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 四方藤薄层鉴别^[2]

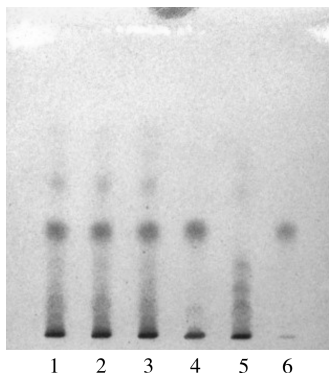
2.1.1 对照药材溶液的制备 取四方藤对照药材粉末0.5 g(过60目筛),精密加入20 mL甲醇,超声波提取30 min,放冷,提取液滤过,取续滤液作为对照药材溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 取岩白菜素对照品适量,制成每1 mL含0.5 mg的岩白菜素甲醇溶液,作为对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品内容物2.0 g,精密加入20 mL甲醇,超声波提取30 min,放冷,提取液滤过,水浴蒸干,用甲醇1 mL溶解残渣,作为供试品溶液。

2.1.4 缺四方藤阴性样品溶液制备 按产后三泡溶剂处方取缺四方藤的各味药材,按工艺制法制备缺四方藤的阴性样品,取2.0 g,按照“2.1.3”项下方法制备,即得缺四方藤的阴性样品溶液。

2.1.5 薄层色谱条件及结果 照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取“2.1.1~2.1.4”项下溶液各1 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,展开剂为三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇(2.5:2:1),展开,取出,晾干,喷以2%三氯化铁-2%铁氰化钾(1:1)溶液,加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与四方藤对照药材色谱和岩白菜素对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝色斑点,缺四方藤阴性样品溶液在相应的位置无此斑点,见图1。



注:1~3:供试品(批号131008、131009、131010);4:对照药材;5:阴性样品;6:对照品。

图1 四方藤的薄层鉴别图

2.1.6 系统适应性试验 展开温度为10、25、35 $^{\circ}$ C时,供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品相应的位置上显相同的蓝色斑点;展开湿度为30%、70%、90%时展开结果亦同。表明不同温度、湿度展开条件对本实验建立的方法无明显影响。

2.2 岩白菜素含量测定^[3-4]

2.2.1 色谱条件 Intersil-C₁₈色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)。以甲醇-水(22:78)为流动相;检测波长设为286 nm;进样量10 μ L;理论板数按岩白菜素计算应不低于3 000。

2.2.2 标准曲线考察 精密称取岩白菜素对照品10.3 mg,置25 mL的棕色量瓶中,用流动相溶解并

稀释至刻度,摇匀,得388.9 mg $\cdot$ L⁻¹对照品储备液。分别精密量取对照品储备液0.25、0.50、0.75、1.00、2.00、4.00 mL,各置于10 mL棕色量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,按“2.2.1”项下色谱条件分别进样测定,以浓度C(mg $\cdot$ L⁻¹)为横坐标,峰面积A为纵坐标,计算得回归方程和相关系数,分别为 $Y = 12951C + 14079$, $r = 0.9999$ 。结果表明:在9.72~155.6 mg $\cdot$ L⁻¹的浓度范围内,岩白菜素对照品的浓度与其峰面积呈正比关系。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密量取岩白菜素对照品储备液1.0 mL,置10 mL棕色量瓶中,用流动相稀释至刻度,得每1 mL含38.9 μ g的对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 取本品内容物研细并混匀,取0.2 g,精密称定,置具塞锥形量瓶中,精密加入25 mL流动相,塞紧,称定重量,超声波处理(功率100 W,频率45 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用流动相补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 缺四方藤阴性样品溶液制备 取“2.1.4”项下缺四方藤的阴性样品,按照“2.2.4”项下方法制备,即得。

2.2.6 精密度的考察 取“2.2.3”项下对照品溶液和按“2.2.4”项下方法制备的同一样品溶液(批号131008),照“2.2.1”项下方法连续测定峰面积值6次,对照品及供试品溶液中岩白菜素色谱峰峰面积RSD值分别为0.88%、0.86%。

2.2.7 稳定性的考察 取同一样品(批号131008),按“2.2.4”项下方法制备,于制备后0、4、8、12、16 h,按照“2.2.1”项下方法分别测定峰面积,计算峰面积RSD值为0.86%。表明供试品溶液在16 h内保持稳定。

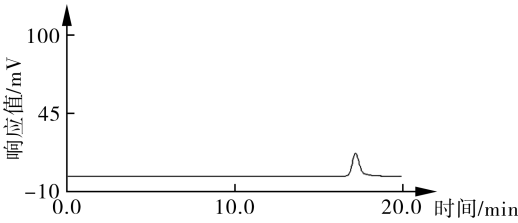
2.2.8 重复性的考察 取同一批样品(批号131008),按“2.2.4”项下方法制备6份样品溶液,照“2.2.1”项下方法分别测定其峰面积,计算。结果测得岩白菜素含量为每袋272.1 mg, RSD值为1.10%,说明本方法重复性好。

2.2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量(每袋272.1 mg)的样品(批号131008)内容物约0.1 g 6份,分别置6个具塞锥形瓶中,精密加入388.9 mg $\cdot$ L⁻¹岩白菜素对照品储备液溶液1.4 mL,精密加入流动相24 mL,按“2.2.4”项下的方法提取,按照“2.2.1”项下方法测定,计算加样回收率,结果见表1,岩白菜素平均回收率为96.4%, RSD为1.11%。

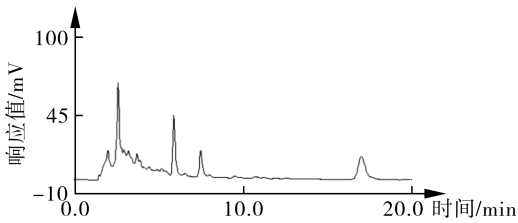
表1 加样回收试验(n=6)

编号	取样量 /g	样品中 含量/ μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%
1	0.101 5	539.0	544.5	1071.4	97.8
2	0.103 4	548.1	544.5	1 079.6	97.6
3	0.100 4	533.2	544.5	1 056.8	96.2
4	0.100 8	535.3	544.5	1 057.3	95.9
5	0.101 1	536.9	544.5	1 054.3	95.0
6	0.102 7	545.4	544.5	1 068.8	96.1

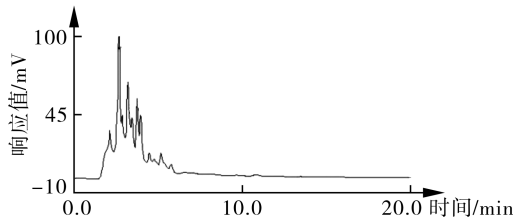
2.2.10 专属性试验 分别精密吸取“2.2.2 ~ 2.2.4”项下对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪测定。结果阴性样品溶液在与对照色谱相同保留时间的位置上未显色谱峰,表明对被测成分无干扰。结果见图 2。



A. 对照品



B. 供试品(批号 131008)



C. 阴性样品

图2 产后三泡 HPLC 色谱图

2.2.11 样品含量测定 取批号分别为 131008、131009、131010 的样品各 2 份,按照“2.2.4”项下的方法,分别制备样品溶液,进行测定,岩白菜素含量分别为每袋 280.0、284.2、280.4 mg。

3 讨论

“产后三泡”在瑶族民间广泛使用,瑶语为随拉

不漂(Zhauh langx bul bnux),具有“民崩灿酱,民气止闷”功效,用于防治莹拉崩(产后风)”。该方药味众多,使用和携带均存在不便,目前主要局限于瑶族民间使用。因此,有必要对此种医药遗产进行开发研究,制成使用和携带方便、疗效确切、安全且质量可控的制剂,推广应用。在现代制剂质量标准研究工作中,惯选用方中主药的薄层色谱及高效液相做为质量控制手段,如连桂清心片^[5]等。产后三泡医疗机构制剂由走马胎、四方藤、肿节风、飞龙掌血茎等 11 味民族药材组成,瑶族民间早就有谚语提到“产后气力衰,不离走马胎;盈亏要平衡,加用四方藤”。方中以走马胎、四方藤为主药,走马胎为“风”药,四方藤为“打”药,一“风”一“打”,“风”“打”相兼,充分突出了祛风活络、除湿消肿、散瘀止痛、去腐生新的功效。故在制剂开发中,先考虑用走马胎和四方藤作为质量控制手段,但走马胎的药材质量标准^[6]无薄层鉴别和含量测定项目,四方藤其主要化学成分岩白菜素^[7],具有镇痛、抗炎、抑菌、抗氧化等多种药理活性^[8-9],与制剂的主要药效学相关,故选用四方藤及其所含岩白菜素作为质量控制手段是可行的。

在薄层研究中,同时筛选了其他药材,由于产后三泡医疗机构制剂采取的工艺是水提,在成品鉴别中有些药材无法作为质量控制手段,也由于多是民族药材,在所引用的地方标准中没有薄层鉴别,综合考虑还是仅选择了四方藤作为薄层鉴别手段。在四方藤的薄层鉴别研究中,考察了硅胶 G 薄层板和聚酰胺薄膜,结果两者均可以将四方藤药材中的岩白菜素进行分离,但是硅胶 G 薄层板还可以把四方藤药材中的其他斑点进行分离,从而可提高四方藤药材定性鉴别的专属性和可控性;也摸索了不同的展开剂:结果采用三氯甲烷-甲醇(8:2) Rf 值太高,三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇(2:2:1) Rf 值太低,最终采用三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇(2.5:2:1) 展开系统。

在 HPLC 研究中,分别考察了 50% 甲醇、流动相、水作为提取溶剂,考察了不同提取方法,超声、加热回流和索氏提取中岩白菜素的含量。结果表明流动相 25 mL 作为提取剂,超声处理 30 min,效果最好,故选之。也对系统适应性进行了考察,根据“2.2.1”条件,选用了 Intersil C₁₈、Xbrige C₁₈、AQ C₁₈ 3 根不同品牌填料的色谱柱对样品中岩白菜素与其他杂质峰的分离的影响,结果三根不同品牌填料的色谱柱分离度均大于 1.5,理论塔板数均在 3 000 以上,表明该测定该方法测定岩白菜素,对色谱柱选