

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.19.004

医院制剂榆参洗剂质量标准研究*

朴春梅, 梁 会, 周训蓉[△]

(贵阳中医学院第二附属医院, 贵州 贵阳 550001)

摘要:目的 建立榆参洗剂的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法(TLC)法鉴别方中黄柏、苦参。采用高效液相色谱(HPLC)法测定榆参洗剂中盐酸小檗碱的含量,色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(28:72),流速为 1 mL/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 265 nm。结果 薄层色谱鉴别方法专属性强,斑点清晰,且阴性无干扰;盐酸小檗碱质量浓度线性范围为 0.013 005~0.130 050 g/L($r=0.999\ 9$, $n=6$)。结论 该方法结果准确、重复性好,可有效控制该制剂的质量。

关键词:榆参洗剂;质量标准;盐酸小檗碱;高效液相色谱法

中图分类号:R943

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)19-0011-03

Study on Quality Standard of Yushen Lotion of Hospital Preparations

Pu Chunmei, Liang Hui, Zhou Xunrong

(The Second Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou, China 550001)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Yushen Lotion. **Methods** The TLC method was used to identify *Phellodendri Chinensis* Cortex and *Sophora Flavescens Radix* in Yushen Lotion. The HPLC method was used to determine berberine hydrochloride in Yushen Lotion. The Ultimate XB-C₁₈ column(150 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution(28:72), the flow rate was 1 mL/min, the column temperature was 30 ℃, and the detection wavelength was 265 nm. **Results** The TLC identification method was highly specific with clear spots, and negative control without interference. Berberine hydrochloride was linear in the range of 0.013 005-0.130 050 g/L($r=0.999\ 9$, $n=6$). **Conclusion** This method is accurate and reproducibly, which can be used for the quality control of Yushen Lotion.

Key words: Yushen Lotion; quality standard; berberine hydrochloride; HPLC

榆参洗剂处方源自我院皮肤科经验用方,组方为黄柏、地榆、苦参、蛇床子、冰片等,具有清热燥湿、杀虫止痒的功效,适用于湿疹、银屑病、丘疹性荨麻疹、结节性痒疹、疥疮、皮肤瘙痒症等瘙痒性皮肤病。现代药理研究证实,黄柏、地榆、蛇床子、地肤子、苦参、冰片等可降低毛细血管通透性和减轻炎性介质的释放,产生明显的抗炎、抗过敏效应,并对金黄色葡萄球菌等均有不同程度的抑制作用。为了更好地控制榆参洗剂的质量,本研究对方中黄柏、苦参 2 味药材进行了薄层色谱(TLC)鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法对方中黄柏的活性成分小檗碱(C₂₀H₁₈NO₄)进行含量测定,为完善该制剂的质量标准提供參考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

HP1100 型高效液相色谱仪,包括自动进样器、在线脱气机、DAD 检测器(美国安捷伦公司);HB-10250 型超声清洗器(功率为 250 W,频率为 40 kHz,江苏汉邦科技有限公司);AE 电子分析天平(十万分之一, Mettler Toledo);98-1-B 型电子控温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);DZ-1BC 型真空干燥箱(天津市泰斯特

仪器有限公司)。

1.2 试剂

乙腈为色谱纯,乙醇、磷酸等均为分析纯;水为超纯水;国家药品标准物质盐酸小檗碱(中国食品药品检定研究院,供含量测定用,批号为 110713-201212);硅胶 G、硅胶 H(青岛海洋化工厂,供薄层层析用);榆参洗剂(我院自制制剂)。

2 方法

2.1 薄层色谱鉴别^[1]

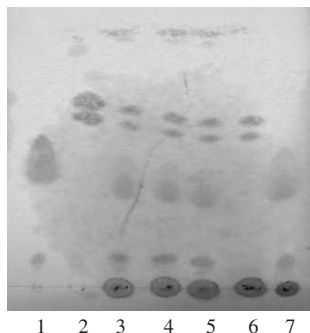
黄柏、苦参:取样品 10 mL,加 1% 醋酸甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至 1.5 mL,作为供试品溶液。取缺黄柏及缺苦参的阴性模拟制剂各 10 mL,同法制备阴性对照品溶液。另取黄柏及苦参对照药材各 5 g,分别加 1% 醋酸甲醇 50 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液浓缩至 1.5 mL,作为黄柏对照药材溶液及苦参对照药材溶液。照 2010 年版《中国药典(一部)》附录 VI B 中薄层色谱法试验,取黄柏对照药材、苦参对照药材、供试品、缺黄柏阴性对照品和缺苦参阴性对照品溶液各 5 μL,点于同一硅胶 H 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(30:10:3)的下层溶液为展开剂,置氨蒸气饱和的展

*基金项目:贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题[QZY2013-81]。

第一作者:朴春梅,女,大学本科,主任药师,研究方向为中药学,(电子信箱)373650304@qq.com。

[△]通信作者:周训蓉,女,大学本科,主任药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)2398662779@qq.com。

开缸内,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液^[1]。供试品溶液色谱中,在与2种对照药材溶液色谱相应位置上,显相同颜色斑点,阴性对照无干扰,色谱图见图1。



1. 黄柏对照药材溶液 2. 苦参对照药材溶液
3-5. 供试品溶液 6. 缺黄柏阴性对照品溶液
7. 缺苦参阴性对照品溶液

图1 黄柏、苦参薄层色谱图

2.2 盐酸小檗碱含量测定(HPLC法)

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate XB-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(28:72);流速:1 mL/min;柱温:30℃;检测波长:265 nm。

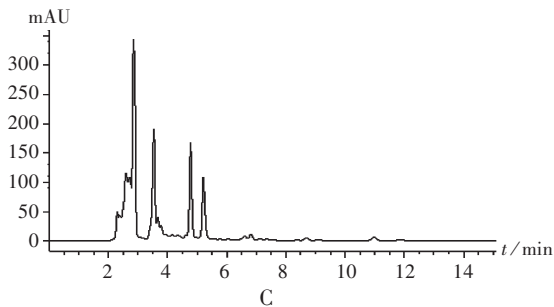
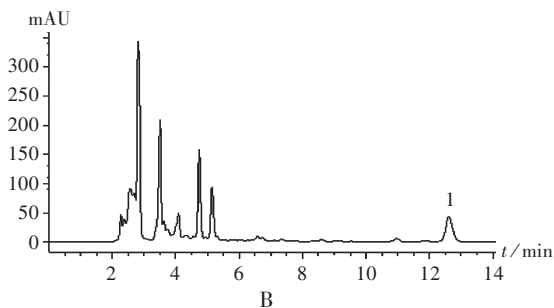
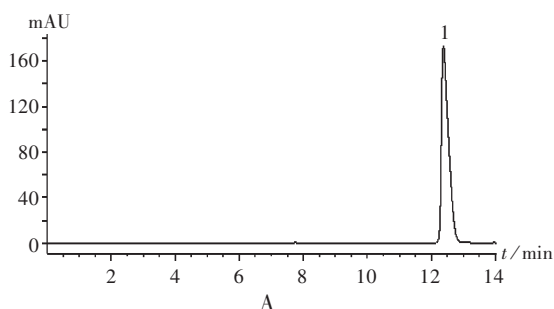
2.2.2 溶液制备

精密量取样品10 mL,置50 mL锥形瓶中,加乙醇30 mL,加热回流处理30 min,放冷,过滤,滤液定容到50 mL,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。取缺黄柏药材的阴性对照品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。称取盐酸小檗碱对照品1.951 mg,置5 mL容量瓶中,加乙腈-水(5:1)混合溶剂溶解并稀释至刻度,摇匀,制得每1 mL含0.260 1 mg的对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:分别吸取盐酸小檗碱对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,按拟订色谱条件测定。阴性对照品溶液在与对照品溶液相同保留时间处未见色谱峰,说明阴性无干扰,色谱图见图2。

线性关系考察:精密吸取混合对照品溶液0.1, 0.2, 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 mL,分别置2 mL容量瓶中,加乙腈-水(5:1)混合溶剂稀释至刻度,摇匀,按拟订色谱条件,各取5 μL进样,以峰面积积分值(Y)为纵坐标、质量浓度(X, g/L)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 27\,815.362X + 25.344\,114$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$)。结果表明,盐酸小檗碱质量浓度在0.013 005~0.130 050 g/L与峰面积线性关系良好。



1. 盐酸小檗碱

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

精密度试验:精密吸取同一对照品溶液5 μL,重复进样6次,测定峰面积。结果的RSD为0.58% ($n = 6$),表明仪器精密良好。

稳定性试验:精密量取同一供试品溶液10 mL,分别于0, 3, 6, 9, 12 h时进样。结果的RSD为0.93% ($n = 5$),表明供试品溶液在12 h内稳定。

重复性试验:分别精密量取样品8, 10, 12 mL各3份,依法制备供试品溶液,分别进样测定。结果平均含量为1.23 g/L, RSD为2.94% ($n = 9$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:称取已知含量的样品(盐酸小檗碱含量为0.264 g/L)9份,每份5 mL,精密量取;取对照品溶液(初始质量浓度为1.234 g/L)1.00, 0.75, 0.60 mL,精密量取,加入上述样品溶液中(每个质量浓度3份),依法制备供试品溶液,分别进样测定,计算回收率。结果见表1。

2.2.4 样品含量测定

依法制备供试品溶液和盐酸小檗碱对照品溶液,分别进样,记录色谱峰,测定峰面积。结果见表2。

表1 盐酸小檗碱加样回收试验结果($n=9$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.23	1.234 0	2.423	96.68	98.00	1.32
1.23	1.234 0	2.440	98.06		
1.23	1.234 0	2.455	99.27		
1.23	0.925 0	2.130	97.30	97.91	0.61
1.23	0.925 0	2.136	97.95		
1.23	0.925 0	2.141	98.49		
1.23	0.740 4	1.963	99.00	100.22	2.46
1.23	0.740 4	1.993	103.05		
1.23	0.740 4	1.960	98.60		

表2 样品含量测定结果(g/L, $n=10$)

批号	含量	平均含量
20140601	0.168	0.255
20140602	0.247	
20140603	0.251	
20140704	0.420	
20140705	0.256	
20140706	0.256	
20140707	0.217	
20140801	0.219	
20140802	0.254	
20140803	0.258	

3 讨论

3.1 样品处理方法

在建立盐酸小檗碱定量方法时,分别考察了超声提取、加热回流提取等供试品溶液的前处理方法,结果以加热回流提取方法较好,盐酸小檗碱含量最高。还对提取溶剂及提取时间进行单因素考察,最终确立了本研究中供试品溶液的制备方法。

3.2 色谱条件选择

榆参洗剂为中药复方制剂,成分复杂,而方中黄柏、苦参分别存在阴性干扰,主斑点不明显,专属性不强。通过多次调整及试验,筛选出以三氯甲烷-甲醇-水(30:10:3)的下层溶液为展开剂,试验证明^[2-4],能同时鉴别苦参与黄柏,且斑点清楚明显,分离效果好,重复性较好,均无阴性干扰,操作简便。该方法具有简易、重复性好、专属性强的优点,可为该制剂质量标准的提高提供参考依据。

由于小檗碱属于季胺型生物碱,极性较大,为了达到良好的分离效果,本研究中采用反相色谱柱进行分离。文献[5-9]报道,曾用乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠(24:76)、(25:75),乙腈-0.1% 磷酸(45:55)和乙腈-水(29:71)作为流动相,2010年版《中国药典(一

部》中,盐酸小檗碱以乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠(38:62)为流动相,综合考虑分离度、出峰时间等因素,最终选择流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(28:72),流速为1 mL/min,柱温为30℃,检测波长为265 nm。结果显示,该条件下样品分离效果好,且出峰时间适中。

3.3 指标成分选择

榆参洗剂具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效,用于湿疹瘙痒湿热、带下热淋。方中选用黄柏清热泻火毒,燥湿去湿热以皮治皮,配地榆凉血解毒、消肿止痛,加强泻火解毒的作用,为君药。且盐酸小檗碱是黄柏的主要活性成分之一^[10-13],故采用盐酸小檗碱为指标进行制剂学研究。

根据本品工艺研究结果,小檗碱平均含量为0.255 g/L,从大批量规模生产考虑,本品每1 mL 盐酸小檗碱的含量,其限度以80%计算,小檗碱的含量为0.204 g/L,故本品的限度定为每瓶含小檗碱($C_{20}H_{18}NO_4$)不得少于20.4 mg。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2010:305-306.
- [2] 潘莉. 某院自制紫地糊剂质量标准的研究[J]. 重庆医学, 2010,39(4):406-407.
- [3] 温建英. TLC/GC法检测冠心苏合胶囊中的冰片[J]. 海峡药学, 2014,26(4):62-63.
- [4] 陈玲珑. 复方消炎散中冰片和姜黄的薄层色谱鉴别[J]. 湖南中医杂志,2013,29(6):124-125.
- [5] 任烨,徐辉,葛争艳,等. HPLC法测定降糖消脂片中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药房,2015,26(18):2530-2532.
- [6] 王美丽,董晖,戴丽丽,等. HPLC法测定蒙药保肾散中盐酸小檗碱的含量[J]. 内蒙古民族大学学报(自然汉文版), 2016,31(3):68-73.
- [7] 李文霞,宋平顺. HPLC法同时测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 药学进展,2011,35(4):178-181.
- [8] 谭生建,魏萍,刘刚,等. HPLC测定黄柏石膏散中盐酸巴马丁和盐酸小檗碱含量[J]. 中国药理学杂志,2004,39(7):546-547.
- [9] 侯晓丽,谭朝丹,时扣荣,等. HPLC法测定冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 药学实践杂志,2017,35(4):353-355.
- [10] 刘仁俊. 黄柏化学成分及药理作用浅谈[J]. 当代医药, 2011,9(13):83-84.
- [11] 于蓓蓓,钟方晓. 地榆化学成分研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(5):104-105.
- [12] 顾关云,肖年生. 苦参的化学成分、生物活性和药理作用[J]. 现代药物与临床,2009,24(5):265-271.
- [13] 黄月纯. 舒乐宁洗剂的薄层鉴别和含量测定[J]. 中药新药与临床药理,2000,11(1):14.

(收稿日期:2018-04-02)