

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.05.013

燥湿止痒洗液质量标准提升研究*

张培,陈晓双,费小凡,宋毅[△]

(四川大学华西医院临床药学部,四川 成都 610041)

摘要:目的 探讨燥湿止痒洗液中黄芩、蛇床子的质量标准提升。方法 采用薄层色谱法鉴别黄芩、蛇床子,从制备方法、展开剂、点样量、检视条件、专属性、温度、相对湿度、薄层板等影响因素中筛选最优的薄层色谱条件。结果 黄芩采用硅胶G薄层板,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(6:3:2:1)为展开剂,喷以2%三氯化铁乙醇溶液,晾干后检视显示斑点清晰;蛇床子采用硅胶G薄层板,以甲苯-甲醇-甲酸(10:2:1)为展开剂,于紫外灯365 nm下检视,荧光斑点明显。结论 该方法操作简单、斑点清晰、重现性好、专属性强,阴性无干扰,可适用于该制剂的质量控制。

关键词:燥湿止痒洗液;薄层色谱鉴别;黄芩;蛇床子;质量标准

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)05-0039-04

Study on the Improvement of Quality Standard of Zaoshi Zhiyang Lotion

ZHANG Pei, CHEN Xiaoshuang, FEI Xiaofan, SONG Yi

(Department of Clinical Pharmacy, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041)

Abstract: Objective To investigate the improvement of the quality standard of *Scutellaria baicalensis* and *Cnidium monnieri* in Zaoshi Zhiyang Lotion. **Methods** TLC method was used to identify *Scutellaria baicalensis* and *Cnidium monnieri*. The optimization of TLC conditions was selected from the factors such as preparation methods, developing agent, sample size, inspection conditions, specificity, temperature, relative humidity, thin-layer plate and so on. **Results** The optimum conditions of *Scutellaria baicalensis* were as follows: using silica gel G thin-layer plate with ethyl acetate-butanone-formic acid-water(6:3:2:1) as the developing agent, spraying 2% ferric chloride ethanol solution, after air drying, the spots were clear. The optimum conditions of *Cnidium monnieri* were as follows: using silica gel G thin-layer plate with toluene-methanol-formic acid(10:2:1) as the developing agent, the fluorescence spots were obvious when examined under 365 nm UV lamp. **Conclusion** The method is simple, clear, reproducible, specific and has no negative interference, which can be used for the quality control of Zaoshi Zhiyang Lotion.

Key words: Zaoshi Zhiyang Lotion; TLC; *Scutellaria baicalensis*; *Cnidium monnieri*; quality standard

燥湿止痒洗液是由黄柏、黄芩、蛇床子、冰片等13味中药材制成的外用液体制剂,具有清热燥湿、杀虫止痒的功效,是本医院的临床验方,具有10多年的使用历史。四川省食品药品监督管理局标准项下仅对黄柏和冰片进行了薄层鉴别,而燥湿止痒洗液中黄连和黄柏中均含有小檗碱成分,阴性有干扰,专一性差,为了更好地对燥湿止痒洗液进行质量控制,现新增黄芩、蛇床子的薄层色谱(TLC)鉴别。黄芩具有清热、燥湿作用,主要活性成分为黄酮类化合物^[1],其中黄芩苷是黄芩发挥功效的主要活性成分,具有抗菌、抗病毒、解热镇痛、抗炎等作用^[2]。因此,本研究中将黄芩苷作为黄芩检测的指标成分。蛇床子功能燥湿祛风、杀虫止痒、温肾壮阳,用于阴痒带下、湿疹瘙痒、温痹腰痛等症状^[3]。蛇床子及其制剂临床应用非常广泛,主要用于治疗湿疹等各种瘙痒病症^[4],是燥湿止痒洗液中主要活性成分,故同时选用蛇床子素作为质量标准提升的指标^[5]。本研究中完善了燥湿止痒洗剂的质量标准,可为临床用药安全提供更合理

的保障。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AS3120型超声波处理器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);HWS24型电热恒温水浴锅(上海一恒科技仪器有限公司);ZF-90型多功能暗箱式紫外透射仪(上海宝山顾村电光仪器厂);XP205DR型电子分析天平(十万分之一,瑞士梅特勒-托利多集团);IRD-7080型鼓风干燥箱(上海智诚分析仪器制造有限公司);LP2102型电子天平(常熟市鸿泰仪器仪表技术有限公司)。自制硅胶G薄层板[取薄层层析硅胶G(青岛海浪硅胶干燥剂有限公司)适量,按1:3的比例加入含0.3%羧甲基纤维素钠的水溶液混匀自制薄层板,晾干后,于110℃烘30 min,置干燥器内存放备用];薄层硅胶G板(青岛海浪硅胶干燥剂有限公司);聚酰胺薄膜(浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂);1 μL定量点样毛细管(华西医科大学仪器厂)。

*基金项目:四川省科技计划项目[2015SZ0039]。

第一作者:张培,女,大学本科,药师,研究方向为中药学,(电子信箱)1296763918@qq.com。

[△]通信作者:宋毅,女,硕士研究生,主任药师,研究方向为制剂开发与研究,(电子信箱)512747810@qq.com。

1.2 试药

黄芩对照药材(批号为120955-200406),黄芩苷对照品(批号为110715-200514),蛇床子对照药材(批号为121030-200405),蛇床子素对照品(批号为110822-201308),均购于中国药品生物制品检定所;燥湿止痒洗液(医院制剂,批号分别为180305,180312,180319);冰乙酸(重庆化学试剂厂);丙酮(成都光华化学厂);甲酸,甲苯,硫酸,无水乙醇,乙酸乙酯,丁酮,甲醇,正己烷,环己烷(分析纯,成都市科龙化工试剂)。

2 方法与结果

2.1 黄芩的鉴别^[6-7]

2.1.1 溶液制备

供试品溶液:取燥湿止痒洗液10 mL,乙酸乙酯-甲醇(3:1)的混合溶液30 mL,分别按以下3种方法提取。1)加热回流30 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇3 mL使溶解,取上清液作为供试品溶液^[13];2)超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇3 mL使溶解,取上清液作为供试品溶液2;3)浸渍过夜,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇3 mL使溶解,取上清液作为供试品溶液3。

对照药材溶液:取黄芩对照药材1 g,同法分别制成对照药材溶液。

对照品溶液:取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.1.2 薄层色谱条件考察

展开系统选择:分别吸取2.1.1项下的最佳供试品、对照药材和对照品3种溶液点于同一聚酰胺薄膜上,以展开剂(甲苯-丙酮-甲醇-冰乙酸(8:1:1:1))^[8],展开,取出晾干,置紫外灯下(365 nm)下检视;分别吸取2.1.1项下的最佳供试品、对照药材和对照品3种溶液点于同一硅胶G薄层板上,用展开剂[甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(9:3:2:2)]^[9],展开,取出晾干,在日光下放置30 min后直接观察;分别吸取2.1.1项下的最佳供试品、对照药材和对照品3种溶液点于硅胶G薄层板上,以展开剂[乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(6:3:2:1)],展开,取出,晾干,喷以2%三氯化铁乙醇溶液,晾干后检视。结果,展开剂1斑点拖尾严重,斑点模糊;展开剂2各斑点明显, R_f 值适中,但是阴性干扰严重,专属性差。故最终选择展开剂3[乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(6:3:2:1)]作为黄芩的最佳展开系统。

点样量选择:吸取2.1.1项下的最佳供试品、对照药材和对照品3种溶液各2,4,5,10 μ L,点于同一聚酰胺薄膜上和硅胶G薄层板上,以“展开系统选择”项下选出最佳检视条件同法检视。结果,根据斑点的清晰度和 R_f 值确定,黄芩供试品溶液、对照药材溶液和对照品溶液的最佳点样量均为10 μ L。

检视条件考察:吸取2.1.1项下的最佳供试品、对照药材和对照品3种溶液,在选出的最佳展开系统(展开剂3,点样量10 μ L)中展开,取出晾干,分别在紫外灯(254 nm和365 nm)下,或喷以2%三氯化铁乙醇溶液;或日光下放置30 min后直接观察。结果,黄芩特征斑点在喷以2%三氯化铁乙醇溶液后斑点显示清晰,阴性无干扰。

专属性考察:取处方中除黄芩以外的所有药材,按照燥湿止痒洗液制备工艺制得阴性样品,按最佳供试品溶液的制备方法,同法制成阴性对照品溶液。吸取阴性对照品溶液10 μ L和2.1.1项下3种溶液,以“展开系统选择”“点样量的选择”“检视条件考察”项下选出最佳检视条件进行检视。结果,在专属性考察薄层色谱中,阴性对照品溶液与对照品溶液和对照药材相应的位置上显示无斑点,说明黄芩专属性良好。

温度和相对湿度考察^[10-11]:取2.1.1项下的3种溶液,按照“点样量的选择”项下进行点样,分别在不同的温度和相对湿度环境中展开,湿度条件通过在展开缸的一端加入不同比例的硫酸控制。温度和相对湿度条件见表1。结果,在4℃及25℃条件下,黄芩斑点均显示清晰的斑点,但 R_f 值略有差别,考虑薄层鉴别的方便性和适用性,故选择35℃作为黄芩TLC的最佳温度环境;湿度在88%时各斑点分离影响小,分离效果良好。

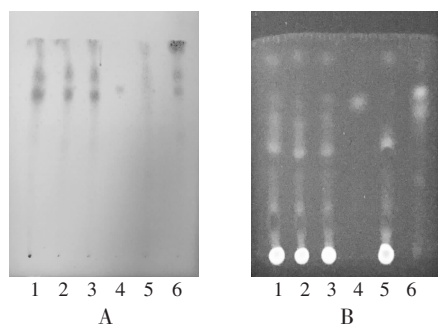
不同薄层板考察:取2.1.1项下的3种溶液,分别点于市售硅胶G薄层板、自制硅胶G薄层板和聚酰胺薄膜上,按“检视条件考察”项下的方法检视。分别对市售薄层板、自制薄层板和聚酰胺薄膜进行考察,结果显示聚酰胺薄膜载药量少,阴性对照溶液与对照品溶液和对照药材在相应的位置拖尾严重,难以辨认出特征斑点;而自制薄层板存在铺板时固定相和流动相不均匀,厚度不一,硅胶板活性不稳定等影响因素,导致斑点不清晰、拖尾等现象。故选择市售薄层板进行试验。

表1 不同温度和相对湿度条件

相对温度(℃)	放置位置	相对湿度(%)	硫酸-水(V:V)
4	冰箱	18	100:95.50
25	室温	42	57:100
35	恒温干燥箱	65	34:100
		88	10.80:100

2.1.3 黄芩 TLC

按2015年版《中国药典(四部)》通则0502法^[12]进行薄层色谱鉴别:1)展开系统,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(6:3:2:1)为展开剂,取出,晾干。2)点样量,吸取供试品溶液、对照药材溶液和对照品溶液各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上。3)检视条件,喷2%三氯化铁乙醇溶液,晾干后检视,斑点明显。色谱图见图1A。



1-3. 供试品溶液(批号为180305,180312,180319)

4. 对照品溶液 5. 阴性对照品溶液 6. 对照药材溶液

A. 黄芩 B. 蛇床子

图1 薄层色谱图

2.2 蛇床子的鉴别^[13-14]

2.2.1 溶液制备

取燥湿止痒洗液20 mL,浓缩至约3 mL,加甲醇20 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2 mL溶解,作为蛇床子的供试品溶液。取蛇床子对照药材0.3 g,同法制成对照药材溶液。取蛇床子素对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 薄层色谱考察

展开系统选择:分别吸取2.2.1项下的3种溶液,分别点于硅胶G薄层板上,分别以甲苯-乙酸乙酯-正己烷(3:3:2)^[3]、环己烷-乙酸乙酯(4:1)^[15]、甲苯-甲醇-甲酸(10:2:1)为展开剂,上展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。结果,前两种展开剂下,斑点拖尾严重,分离效果不理想;第3种展开剂下,各斑点清晰且分离良好, R_f 值适中,阴性无干扰。通过斑点的 R_f 值、分离度、拖尾情况,选择甲苯-甲醇-甲酸(10:2:1)作为本品的最佳展开系统。

点样量选择:吸取2.2.1项下的3种溶液各2,5,10,20 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,以“展开系统选择”“点样量选择”项下同法检视。结果,根据斑点的清晰度和分离度确定供试品溶液、对照药材溶液和对照品溶液的最佳点样量均为10 μ L。

检视条件考察:吸取2.2.1项下的3种溶液,在“展开系统选择”项下的最佳展开系统下展开,取出,晾干,分别于302 nm和365 nm波长处(紫外灯)检视。结果,本品特征斑点在紫外灯365 nm下观察时吸收最大,荧光斑点最明显,故确定以365 nm作为最佳检视条件。

专属性考察:取除蛇床子外的其他药材制成阴性品对照溶液。吸取阴性对照品溶液10 μ L和2.2.1项下的3种溶液,按照“检视条件考察”项下条件同法检视。结果,阴性对照品溶液在与对照品溶液色谱和对照药材色谱相应的位置上无斑点,供试品各组分离良好,表明该

方法的专属性良好。

温度和相对湿度考察:吸取2.2.1项下的3种溶液,按照“点样量选择”项下方法点样,分别在不同温、相对湿度条件展开(见表1)。结果,在温度25 $^{\circ}$ C、相对湿度65%条件下,各目标斑点在对应位置上斑点清晰,分离度良好。

不同薄层板考察:取2.2.1项下的3种溶液,分别点样于市售硅胶G薄层板、自制硅胶G薄层板,按“检视条件考察”项下方法检视。结果显示,聚酰胺薄膜载药量少,阴性对照品溶液与对照品溶液和对照药材在相应的位置拖尾严重,难以辨认出特征斑点;自制薄层板存在铺板时固定相和流动相不均匀,厚度不一,硅胶板活性不稳定等影响因素,导致斑点不清晰、拖尾等现象。故选择市售薄层板进行试验。

2.2.3 蛇床子 TLC

按2015年版《中国药典(四部)》通则0502法^[12]进行薄层色谱鉴别:1)以甲苯-甲醇-甲酸(10:2:1)为展开剂,取出,晾干。2)点样量,吸取供试品溶液10 μ L,对照药材溶液和对照品溶液各5 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上。3)检视条件,置紫外灯365 nm下观察,荧光斑点明显。色谱图见图1B。

3 讨论

燥湿止痒洗液由13味中药材构成,组分较多,成分复杂,不同药材含有相同有效成分,如黄芩和甘草均含有黄酮类有效成分^[16],参考2015年版《中国药典(一部)》^[3]选取黄芩素作为薄层色谱鉴别指标成分,目标斑点不清晰,阴性干扰严重,专属性差。本研究结果显示,以黄芩中黄芩苷作为指标成分,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(6:3:2:1)为展开剂,在硅胶G板上斑点显示清晰、阴性无干扰,具有较强的专属性。故最终确定以黄芩苷作为黄芩的指标成分。但其他药材的有效成分和黄芩地均被提取出来,且性质相似,导致无法分离出指标成分或分离效果差。又考察了黄芩的提取方法,即分别采用加热回流30 min、超声30 min和浸泡过夜的方法,结果采用超声提取30 min时,黄芩苷的含量最高。

参考2015年版《中国药典(一部)》中蛇床子项下的薄层鉴别方法进行试验^[3],目标斑点模糊,拖尾严重。这可能是因为蛇床子素属于香豆素类化合物^[17],脂溶性较强,在乙醇中溶解度较低。本研究结果显示,蛇床子在甲醇中溶出效果好,故选择甲醇作为蛇床子的提取溶剂,同时考察了超声30 min、加热回流30 min、浸渍过夜等提取方法,发现浸渍过夜法浸出率低,加热回流法易造成成分分解,薄层板上样点浅显难辨,最终确定采用超声30 min为最佳提取方法。

综上所述,通过对燥湿止痒洗剂中黄芩和蛇床子两

种药材薄层鉴别方法进行优化,该方法能快速、准确且阴性无干扰地进行定性鉴别,简便、易操作,并经不同实验人员试验均能测出,结果稳定,重复性很好。

参考文献:

- [1] 李娟,张龙,刘继,等. 黄芩黄酮的研究发展[J]. 畜牧与饲料科学,2018,39(5): 71-72.
- [2] 辛文好,宋俊科,何国荣,等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究[J]. 中国新药杂志,2013,22(6): 647-653.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药出版社,2015:315-316.
- [4] 赵莹莹,伍冠一,邵容格,等. 中药复方制剂中蛇床子方剂的用药规律分析[J]. 中国民族民间医药,2017,26(16): 9-12.
- [5] 郑立卿,张力,董晓华,等. 蛇床子素药理作用研究进展[J]. 神经药理学报,2013,3(6): 29-35.
- [6] 许佳楠,朱盛山,邓剑壕,等. 中药复方NZ制剂中黄芩苷薄层鉴别及含量测定[J]. 亚太传统医药,2017,13(7): 41-43.
- [7] 吴桐,张巧丽,姚树坤. 清肝化痰方质量标准研究[J]. 世界中医药,2017,12(10): 2457-2461.
- [8] 高永丰,马艳玲,赵永亮,等. 黄芩薄层色谱鉴别研究[J]. 北方药学,2013,10(2): 6.
- [9] 马静,宋毅,费小凡,等. 鼻窍通颗粒中黄芪、黄芩的薄层鉴别研究[J]. 华西医学,2017,32(9): 1409-1413.
- [10] 李向军,王超,王永,等. 中药薄层色谱影响因素分析及应用[J]. 中国药业,2011,20(14): 13-15.
- [11] 韩晓霞. 中药薄层色谱鉴别检验中的影响因素及问题探讨[J]. 医学信息,2014,10: 452-453.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药出版社,2015: 57-58.
- [13] 张慧月,赵妹,赵雪梅. 祛湿止痒洗液的定性定量方法研究[J]. 药物分析杂志,2017,37(5): 903-910.
- [14] 石小鹏,缪珊,李捷,等. 参蛇软膏的质量标准研究[J]. 西北药学杂志,2014,29(2): 114-117.
- [15] 李江,王慧,左文,等. 舒乐洗剂的薄层鉴别研究[J]. 中医药导报,2015,21(9): 42-44.
- [16] 张静,胡代琼,刘三侠,等. 常见甘草品种有效成分及药理作用研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2012,31(1): 23-27.
- [17] 李坤平,高崇凯,李卫民. UPLC/ESI-TOF-MS/MS分析蛇床子提取物中香豆素类化合物[J]. 中成药,2009,31(4): 584-587.

(收稿日期:2018-07-20)

· 个案 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.05.014

盐酸胺碘酮注射液致过敏性休克死亡

邱彦龙,公绪锋,孙夫东[△]

(山东省平邑县人民医院,山东 临沂 273300)

中图分类号:R972⁺.2;R593.1

文献标识码:D

文章编号:1006-4931(2019)05-0042-02

1 临床资料

患者,男,77岁,因腹部疼痛不适、乏力约1个月,于2018年3月27日入院。既往冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)3年,对注射用脂溶性维生素(Ⅱ)、雷尼替丁胶囊、丹参片过敏。

体格检查示体温36.4℃,脉搏80次/分,呼吸21次/分,血压120/90 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)。各瓣膜听诊区未闻及杂音,腹部疼痛不适,右腹部压痛,余未见异常。实验室检查未见异常。心电图示窦性心律不齐,室性早搏,ST改变。强化CT示肝多发囊肿,胆总管末端占位。诊断为胆总管末端占位。3月29日,全身麻醉下行胰及十二指肠切除术。术前,青霉素G钠及头孢米诺皮肤过敏试验阳性。手术顺利,术后血压112/71 mmHg,血氧饱和度(SpO₂)0.99。给予氨甲环酸0.5 g、脂肪乳(C₁₄₋₂₄)500 mL、复方氨基酸(18AA)250 mL,人血白蛋白40 g,静脉滴注。4月2日00:31,自诉腹部饱胀感,行

床旁心电图示心律不齐、心房纤颤、心室率121次/分,听诊肺部少许干湿罗音。请心内科医师会诊后,00:50给予盐酸胺碘酮注射液(赛诺菲杭州制药有限公司,国药准字J20130036,批号为7A029,规格为每支3 mL:0.15 g)0.15 g+5%葡萄糖注射液20 mL,以2 mL/min速率静脉泵入,并给予心电监护。泵入约3.5 mL时(约2 min时)出现皮肤及牙龈瘙痒、血压降低,心电监护示窄QIS波、节律120~170改变。因既往有脂溶性维生素(Ⅱ)、雷尼替丁胶囊、丹参片、青霉素类、头孢菌素类药物过敏,考虑患者为过敏体质,可能为胺碘酮所致过敏反应。立即停用胺碘酮,给予吸氧(2 L/min),地塞米松磷酸钠10 mg静脉注射,肾上腺素1 mg静脉注射。用药后,瘙痒无改善,1:00呼之不应,自主呼吸弱,面色发绀,听诊未闻及心音,大动脉搏动消失,心电监护示等电线,立即予以持续胸外心脏按压,简易呼吸器辅助呼吸,1:05恢复窦性心律,心率维持在103~148次/分,血压

第一作者:邱彦龙,硕士研究生,主管药师,研究方向为临床药学,(电子信箱)1140970779@qq.com。

[△]通信作者:孙夫东,大学本科,副主任药师,研究方向为药事管理,(电子信箱)941338593@qq.com。