

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.05.033

消炎止痒浸膏质量标准研究

吴艳蓉

(辽宁省沈阳市肛肠医院药剂科, 辽宁 沈阳 110002)

摘要:目的 建立消炎止痒浸膏的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别消炎止痒浸膏制剂中的苦参碱和连翘苷;采用高效液相色谱(HPLC)法测定该制剂中蛇床子素含量,色谱柱为Topsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(63:37, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为322 nm,柱温为30℃,进样量为10 μL。结果 苦参碱、连翘苷的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰;蛇床子素质量浓度在5.0~80.0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好($r^2=0.9996$, $n=5$),平均加样回收率为100.84%, RSD为1.29% ($n=6$)。结论 该方法操作简便,专属性强,样品分离度好,可用于消炎止痒浸膏的质量控制。

关键词:消炎止痒浸膏;苦参碱;连翘苷;蛇床子素;薄层色谱法;高效液相色谱法;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(2020)05-0127-03

Study on the Quality Standard for Xiaoyan Zhiyang Lotion

WU Yanrong

(Department of Pharmacy, Shenyang Coloproctology Hospital, Shenyang, Liaoning, China 110002)

Abstract: Objective To establish the quality standard for Xiaoyan Zhiyang Lotion. **Methods** Thin layer chromatography(TLC) method was used for qualitative identification of matrine and phillyrin in Xiaoyan Zhiyang Lotion. High performance liquid chromatography(HPLC) method was used for the content determination of osthole in this preparation; the chromatographic column was Topsil C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water(63:37, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 322 nm, the column temperature was 30℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of matrine and phillyrin were clear, the separation was good, and the negative control had no interference. The osthole showed a good liner relationship in the range of 5.0~80.0 μg/mL($r^2=0.9996$, $n=5$). The recovery was 100.84%, RSD was 1.29% ($n=6$). **Conclusion** This method is easy to operate, has strong specificity and good sample resolution, which can be used for the quality control of Xiaoyan Zhiyang Lotion.

Key words: Xiaoyan Zhiyang Lotion; matrine; phillyrin; osthole; thin layer chromatography; high performance liquid chromatography; quality standard

消炎止痒浸膏为我院特色中药制剂,由蛇床子、苦参、防风、荆芥、苍术、连翘等组方,具有消炎、止痒、祛风功效,适用于肛门湿疹及肛周瘙痒症。该制剂为外用制剂,应用时以温水稀释后熏洗患处,直接作用于肛肠病变部位,临床疗效确切,用药简便安全,患者感觉舒适。

但其质量标准较简单,且无主要成分含量测定方法,无法全面进行质量控制。本研究中采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别该制剂中的苦参碱和连翘苷,采用高效液相色谱(HPLC)法测定该制剂中蛇床子素含量,为其质量控制提供参考。现报道如下。

第一作者:吴艳蓉,女,硕士研究生,副主任中药师,研究方向为中药制剂与质量控制,(电子信箱)moxiang801009@126.com。

- [2] 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,2015:23,59,117,301.
- [3] 李靖云,文庆,高洁莹,等. 妇宁颗粒的质量标准的提高[J]. 中国药师,2018,21(10):1883-1887.
- [4] 周虹,杨志福,石小鹏,等. 鼻窦炎颗粒质量标准的提高研究[J]. 中国药师,2018,21(1):162-164.
- [5] 李海艳,杨全,庞玉新,等. 天然冰片、冰片和艾片的鉴别[J]. 中国医院用药评价与分析,2016,16(2):186-189.
- [6] GUO L, NI J, DU ZX, et al. The contents of five indicators in Weikangning Granules were determined by HPLC[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine Information, 2018, 25(12): 83-87.
- [7] 廖汝丹,黄水心. 高效液相色谱法测定哮喘停袋泡颗粒中黄

- 芩苷的含量[J]. 云南中医中药杂志,2019,40(3):74-77.
- [8] 刘彬果,张新萍. 高效液相色谱法测定气管炎颗粒中黄芩苷的含量[J]. 药学实践杂志,2015,33(5):451-452.
- [9] 史文斌. 高效液相色谱法测定丹黄颗粒中大黄素大黄的含量[J]. 山西医药杂志,2018,47(13):1604-1605.
- [10] 杨帆. 高效液相色谱法测定五黄养阴颗粒中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2015,24(17):52-53.
- [11] 刘恺,刘海涛,梁俊,等. 高效液相色谱法测定热炎宁颗粒中野黄芩苷的含量[J]. 临床合理用药杂志,2018,11(5):18-19.
- [12] 刘月红,黄政海,董玲,等. 高效液相色谱法同时测定大黄中14种成分的含量[J]. 中国中药杂志,2017,42(23):4514-4519.

(收稿日期:2019-07-28)

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); FA1104 型电子天平(上海精天电子仪器有限公司); DL-180 型超声波清洗机(浙江省象山县石浦海天电子仪器厂)。

1.2 试药

苦参碱对照品(批号为 110843-201011)、连翘苷对照品(批号为 110821-201213)、蛇床子素对照品(批号为 110822-201308)均购自中国食品药品检定研究院;消炎止痒浸膏(沈阳市肛肠医院自制制剂,批号分别为 20170823, 20170906, 20170920, 规格为每袋 10 g); 甲醇、乙腈(山东禹王实业有限公司化工分公司)均为色谱纯;丙酮、三氯甲烷、乙酸乙酯、硫酸、乙醇、氢氧化铵、甲苯、正丁醇、氢氧化钠(天津市恒兴化学试剂制造有限公司)均为分析纯;纯净水(杭州娃哈哈集团)。

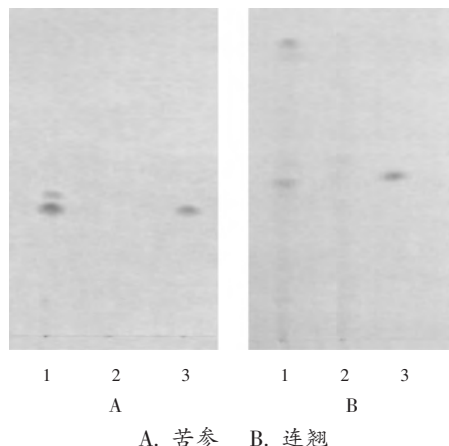
2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

苦参^{[1]202}:取本品 10 mL,加三氯甲烷 20 mL,浓氨试液 0.3 mL,摇匀,放置过夜,滤过,滤液蒸干,残渣加三氯甲烷 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取苦参碱对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。按样品处方工艺制备缺苦参的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法试验,吸取上述 3 种溶液各 4 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮-甲醇(8:3:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以碘化铍钾试液。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同橙色的斑点,阴性对照无干扰。详见图 1 A。

连翘^{[1]170}:取本品 10 mL,加硅藻土 12 g,研匀,加三氯甲烷 60 mL,超声处理 20 min,滤过,弃滤液,药渣挥干,加甲醇 50 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 25 mL,合并提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 30 mL,再用水洗涤 2 次,每次 30 mL,正丁醇提取液蒸干,残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取连翘苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。按样品处方工艺制备缺连翘的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10, V/V/V/V)10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品溶液

色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图 1 B。



1. 供试品溶液 2. 阴性对照品溶液 3. 对照品溶液
图 1 薄层色谱图

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Topsisil C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水(63:37, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 322 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。

2.2.2 溶液制备

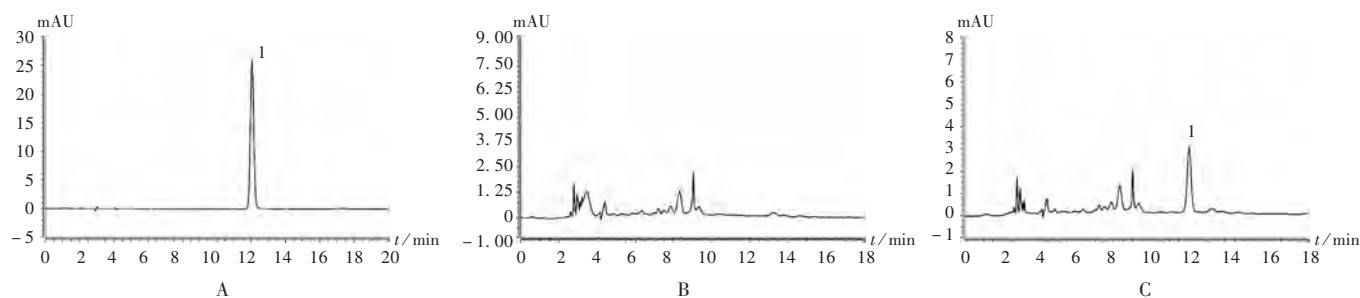
取蛇床子素对照品 2.5 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含蛇床子素 0.1 mg/mL 的对照品溶液。取消炎止痒浸膏 1 mL,加硅藻土 12 g,研匀,加甲醇 60 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 25 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇定容于 50 mL 容量瓶中,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。按样品处方工艺制备缺蛇床子的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取 2.2.2 项下 3 种溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,色谱图见图 2。理论板数按蛇床子素峰计应不低于 3 000,与相邻峰的分度大于 1.5,系统适用性良好。

线性关系考察:分别精密吸取蛇床子素对照品贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取各 10 μ L 注入高效液相色谱仪测定。以质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 58195X + 692537$, $r^2 = 0.9996$ ($n = 5$)。结果表明,蛇床子素质量浓度在 5.0 ~ 80.0 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 10 μ L,按拟订色谱条件重复进样 6 次,记录峰面积。结果蛇床子素峰面积的 RSD 为 1.82% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。



1. 蛇床子素

A. 对照品溶液 B. 阴性对照品溶液 C. 供试品溶液

图2 高效液相色谱图

重复性试验:精密量取样品(批号为20170823)6份,各1 mL,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果蛇床子素峰面积的RSD为0.93% ($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:精密吸取同一批(批号为20170823)供试品溶液,分别于0,1,2,4,8,12 h时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果蛇床子素峰面积的RSD为1.32% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下12 h内稳定。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为20170823)6份,精密称定,分别精密加入高、中、低3种浓度的对照品溶液适量,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
28.20	42.59	71.08	100.68	100.84	1.29
28.81	42.59	71.12	99.34		
29.36	28.39	58.19	101.55		
29.18	28.39	58.11	101.90		
28.77	14.20	42.87	99.30		
29.46	14.20	43.98	102.25		

2.2.4 样品含量测定

取3个批次的样品,精密称定,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定样品中蛇床子素的峰面积,并计算含量。结果批号分别为20170823,20170906,20170920的样品中蛇床子素的含量分别为1.438,1.424,1.457 mg/mL。

3 讨论

消炎止痒浸膏具有消炎、止痒、祛风功效,现代化学和药理学研究表明,蛇床子、苦参和连翘为该方药理作用的主要物质基础^[2-5],且为该制剂处方中的主要药物。蛇床子的有效化学成分为香豆素类化合物,包括蛇床子素、欧前胡素等^[6],具有较强活性的单体成分为蛇床子素,其含量为蛇床子的质量控制标准之一^[1,7]。苦参碱和连翘苷分别为苦参和连翘的主要药效成分,且二者分别为苦参和连翘的质量控制指标之一^[1,8-9]。

参考2015年版《中国药典(一部)》和文献[2-3,

10-11],本研究中通过对样品的提取方法、点样量、展开剂种类和溶剂比例等条件进行筛选,最终确定了苦参碱和连翘苷的TLC定性鉴别方法;参考文献[4-5,12]和2015年版《中国药典(一部)》中蛇床子药材项下蛇床子素的含量测定方法^[11,315]测定蛇床子素的含量,以乙腈-水(65:35, V/V)为流动相,但用于本样品的分离度与理论板数均不理想,于是对流动相比比例进行了筛选,最终确定乙腈-水(63:37, V/V)可满足样品中蛇床子素的分离要求。

综上所述,本研究中建立的方法操作简便,专属性强,样品整体分离效果良好,可用于消炎止痒浸膏的质量控制。

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,2015.
- [2] 蔡晓敏. 苦参洗液的薄层鉴别[J]. 海峡药学,2017,29(2): 75-77.
- [3] 周欢,王小平,白吉庆. 连翘薄层色谱鉴别方法的改进[J]. 中国现代中药,2015,17(4):338-340.
- [4] 李华荣,高逢喜,孙鑫. HPLC法测定妇舒能洗剂中蛇床子素的含量[J]. 中国药师,2010,13(8):1130-1131.
- [5] 段冀江,何红梅,李莎莎,等. HPLC法测定除湿止痒软膏中蛇床子素的含量[J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(12):189-190.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 张钟媛. 苦参的化学成分和药理作用研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2015,36(6):104-106.
- [9] 夏伟,董诚明,杨朝帆,等. 连翘化学成分及其药理学研究进展[J]. 中国现代中药,2016,18(12):1670-1674.
- [10] 江洁仪,李素梅,胥爱丽,等. 参黄搽剂的质量标准研究[J]. 中国药房,2019,30(11):1545-1550.
- [11] 陈健明,黄启媚,许智,等. 肠痈消炎合剂质量控制方法探究[J]. 光明中医,2018,33(9):1255-1258.
- [12] 韩雪,柴金苗,李钦青,等. 蛇床子搽剂的质量标准研究[J]. 中国药房,2018,29(9):1245-1248.

(收稿日期:2019-07-18)