

祛斑凝胶剂质量标准

郭红叶, 匡颖*, 闫小平, 刘宇
(中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

[摘要] 目的: 建立祛斑凝胶剂的质量标准。方法: 采用 TLC 鉴别祛斑凝胶剂中当归、人参、茯苓, 检测波长 365 nm; 运用 HPLC 测定祛斑凝胶剂中阿魏酸含量, 流动相乙腈-0.085% 磷酸(17:83), 柱温 35 °C, 检测波长 316 nm。结果: 定性鉴别中检出当归、人参、茯苓, 分离度好、专属性强且阴性无干扰。阿魏酸线性范围 0.024 ~ 0.144 μg , 精密度 RSD 0.86%, 平均加样回收率 100.24% (RSD 2.93%); 祛斑凝胶剂中阿魏酸平均提取量 0.022 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 1.46%。结论: 建立的 HPLC 操作简单、重复性好, 可较好地控制祛斑凝胶剂的质量, 为该制剂的工业化生产提供参考。

[关键词] 祛斑凝胶剂; 当归; 人参; 茯苓; 阿魏酸; 高效液相色谱法; 卡波姆; 人参皂苷 Rg_1 ; 人参皂苷 Re
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)14-0045-03
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140045
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140528.1344.023.html>
[网络出版时间] 2014-05-28 13:44

Quality Standards Control of Quban Gels

GUO Hong-ye, KUANG Ying*, YAN Xiao-ping, LIU Yu
(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To establish quality standards of Quban gels. **Method:** TLC was adopted to identify *Angelicae Sinensis Radix*, *Ginseng Radix et Rhizoma* and *Poria* with detection wavelength at 365 nm. The content of ferulic acid was determined by HPLC with mobile phase consisted of acetonitrile-0.085% phosphoric acid (17:83), column temperature was set at 35 °C and detection wavelength was 316 nm. **Result:** *Angelicae Sinensis Radix*, *Ginseng Radix et Rhizoma* and *Poria* were identified by TLC, characteristic identification had a good separation, strong specificity and no negative interference. Ferulic acid showed a good linear relationship in the range of 0.024-0.144 μg with an average recovery of 100.2% (RSD 2.93%) and precision RSD of 0.86%. Average extracting amount of ferulic acid in Quban gels was 0.022 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ with RSD of 1.46%. **Conclusion:** This method could be adopted as a standard for quality control of Quban gels and provide a reference for industrial production of this preparation.

[Key words] Quban gels; *Angelicae Sinensis Radix*; *Ginseng Radix et Rhizoma*; *Poria*; ferulic acid; HPLC; carbomer; ginsenoside Rg_1 ; ginsenoside Re

祛斑凝胶剂为本院皮肤科研制, 由当归、人参、白僵蚕等 5 味中药组成, 具有活血化瘀、通经活络、

美白消斑等功效, 临床主要用于治疗黄褐斑。本品选择卡波姆为基质制备水性凝胶剂, 发挥了外用凝胶剂易涂布、简便、经济等优点^[1]。为有效控制该制剂质量, 本实验采用 TLC 对方中当归、人参、茯苓进行定性鉴别, 通过 HPLC 测定凝胶剂中阿魏酸含量, 为有效控制该制剂的质量提供实验依据。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪 (G1316A 型紫外检测器, 美国 Agilent 公司), XP205 型电子天平 (瑞士梅

[收稿日期] 20131031(002)
[基金项目] 中国中医科学院优势病种项目 (CACMS08Y0034)
[第一作者] 郭红叶, 在读硕士, 从事中药提取工艺与质量标准研究, Tel: 010-62835423, E-mail: guohongyezh@163.com
[通讯作者] * 匡颖, 主管药师, 从事中药医院制剂研究, Tel: 010-62835423, E-mail: kuangying1973@126.com

特勒-托利多公司)。祛斑凝胶剂(自制,批号 20130620,20130621,20130622),阿魏酸、人参皂苷 R_g 、人参皂苷 R_e 对照品及当归、茯苓对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为 773-9910, 0703-200221, G100329, 120927-201014, 121117-201308),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 祛斑凝胶剂的制备 取处方量当归和人参,加 8 倍量 80% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h;药渣与方中其他药味合并,加 10 倍量水提取 3 次,每次 2 h;合并提取液,过滤,滤液减压浓缩成深褐色、稠厚状流浸膏,备用。取处方量的卡波姆 940,撒入适量蒸馏水表面,放置过夜溶胀,得凝胶基质。取流浸膏 2.5 g,加入卡波姆 940(1 g)制成的凝胶基质中,加入处方量甘油,滴加适量三乙醇胺调节 pH 5~6,加水至 100 g,搅匀,即得。

2.2 TLC 定性鉴别^[2]

2.2.1 当归 取祛斑凝胶剂 20 g,加入 HCl-70% 甲醇(1:99)100 mL,超声处理 30 min,过滤,滤液用三氯甲烷萃取 2 次,每次 100 mL,合并三氯甲烷层,挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。精密称取当归对照药材 0.5 g,加入乙醚 20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为对照溶液。取缺当归的凝胶剂 20 g,按供试品溶液制备方法制成阴性溶液。照 TLC(2010 年版《中国药典》一版附录 VI B,下同)试验,吸取上述 3 种溶液 2~10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄板上,以环己烷-乙酸乙酯-二氯甲烷-甲酸(6:0.8:0.8:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯光(365 nm)下检视,结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,且阴性无干扰。

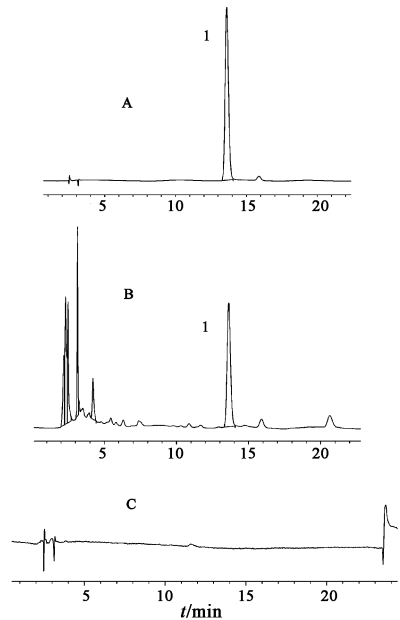
2.2.2 人参^[3] 取祛斑凝胶剂 20 g,加甲醇 100 mL 水浴回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加乙醚萃取 2 次,每次 50 mL,合并水层,水浴蒸至无乙醚味,加水饱和正丁醇 30 mL 振摇提取,取正丁醇层加 1% NaHCO_3 萃取 2 次,每次 10 mL,水洗至中性,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取人参皂苷 R_g 、 R_e 对照品适量,分别加甲醇制成 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。取缺人参的凝胶剂 20 g,按供试品溶液制备方法制成阴性溶液。照 TLC 试验,精密吸取上述 4 种溶液 1~5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄板上,以三氯甲烷-甲醇-水(7.5:3.5:1)下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑

点显色清晰,置紫外灯光(365 nm)下检视,结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,且阴性无干扰。

2.2.3 茯苓^[4] 取祛斑凝胶剂 20 g,加入乙醚 100 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取茯苓对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。取缺茯苓的凝胶剂 20 g,按供试品溶液制备方法制成阴性溶液。照 TLC 试验,吸取上述 3 种溶液 1~10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)-丙酮-乙酸乙酯(8.5:1.5:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,至紫外灯光(365 nm)下检视,结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,且阴性无干扰。

2.3 阿魏酸的含量测定

2.3.1 色谱条件 ODS_{C18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈-0.085% 磷酸(17:83),流速 1 mL \cdot min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,检测波长 316 nm,进样量 10 μ L,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 阿魏酸
图 1 祛斑凝胶剂 HPLC

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品适量,置于 50 mL 棕色量瓶中,加 70% 甲醇制成 12 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.3.3 线性考察 分别精密吸取阿魏酸对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ L, 按 2.3.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方

程 $Y = 38.234X + 2.427$ ($r = 0.9999$), 线性范围 $0.024 \sim 0.144 \mu\text{g}$ 。

2.3.4 供试品溶液的制备 精密称取祛斑凝胶剂 2.0 g , 加入 HCl-甲醇(1:99)混合液 20 mL , 称定质量, 超声处理 30 min , 放冷, 称定质量, 加 HCl-甲醇(1:99)混合液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 70% 甲醇溶解并定容至 10 mL , 即得。

2.3.5 阴性溶液的制备 按处方比例称取药材, 按 **2.3.1** 项下方法制成缺当归的凝胶剂, 按 **2.3.4** 项下方法制备阴性样品溶液。

2.3.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液适量, 按 **2.3.1** 项下色谱条件连续进样 5 次, 结果峰面积的 RSD 0.86% , 表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液适量, 分别于制备后 $0, 2, 4, 6, 8, 10 \text{ h}$ 按 **2.3.1** 项下色谱条件进样, 结果峰面积的 RSD 1.94% , 表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.3.8 重复性试验 取祛斑凝胶剂 5 份, 按 **2.3.4** 项下方法制备供试品溶液, 按 **2.3.1** 项下色谱条件测定, 计算阿魏酸平均提取量 $0.023 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.57% , 表明该方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取祛斑凝胶剂 6 份, 分别加入阿魏酸对照品适量, 按 **2.3.4** 项下方法制备供试品溶液, 按 **2.3.1** 项下色谱条件测定, 结果见表 1, 说明该测定方法合理可靠。

表 1 祛斑凝胶剂中阿魏酸含量测定的加样回收率试验

称样量 /g	样品中量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.042 1	24.176 9	47.583 5	97.53	100.24	2.93
1.059 9	24.590 6	49.635 1	104.40		
1.049 9	24.358 6	49.206 4	103.50		
1.051 9	24.405 0	48.165 3	99.00		
1.046 5	24.279 3	48.012 2	98.89		
1.045 6	24.256 8	47.797 9	98.09		

注:阿魏酸对照品加入量均为 $24 \mu\text{g}$ 。

2.3.10 样品测定 取 3 批样品, 分别按 **2.3.4** 项下方法制备供试品溶液, 按 **2.3.1** 项下色谱条件测定, 结果阿魏酸平均提取量 $0.022 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.46% 。

3 讨论

凝胶剂具有吸收速度快、生物利用度高、生物相容性良好、质地均匀、易于涂展等特点, 且不妨碍皮肤的正常功能, 运输储存使用更为方便。以卡波姆为主要基质制备的水性凝胶, 具备良好的附着性, 易涂展, 无油腻性, 对皮肤无刺激性, 且使药物呈零级或近似零级释放, 在一定程度上控制药物的释放速率, 可提高药物的使用效率^[5-7]。

祛斑凝胶剂为水性凝胶, 在有机溶剂中易结成团块, 待测成分不易提取完全, 根据卡波姆凝胶在酸性环境中黏度降低的特点, 选择甲醇对凝胶进行超声处理, 使凝胶基质变性成细粉以便于过滤。预试验对不同比例的 HCl-甲醇混合提取溶液进行筛选, 结果显示 HCl-甲醇(1:99)时, 供试品溶液制备方便且有效成分提取率高^[8]。

方中君药当归的主要有效成分为阿魏酸, 对光、热不稳定, 故采用超声法提取, 通过预试验对提取时间进行考察, 结果表明提取 30 min 即可达到要求^[9]。本文建立的 HPLC 操作简单、重复性好, 可较好地控制祛斑凝胶剂的质量。

[参考文献]

- [1] 王曙东, 刘文雅. 凝胶剂的研究进展及应用概况[J]. 中国药业, 2010, 19(21):1.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:124.
- [3] 康延国. 中药鉴定学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003:1.
- [4] 郭建功, 郝许峰, 高朝旭, 等. 荡石片质量标准的研究[J]. 中医学报, 2011, 26(9):1088.
- [5] 王洪宽, 张华. 凝胶剂的研究进展[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(9):1054.
- [6] 王敏, 薛晓东. 卡波姆凝胶剂的临床应用研究进展[J]. 医学综述, 2013, 19(6):1078.
- [7] 郭红叶, 闫小平, 伊博文, 等. 均匀设计法优选祛斑凝胶剂基质处方[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(23):4076.
- [8] 刘慧敏, 刘莉, 刘强, 等. 小儿腹泻外敷凝胶膏剂的制备及质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):42.
- [9] 刘超英, 刘丹, 张小燕, 等. HPLC 法测定复方血竭凝胶中阿魏酸的含量[J]. 中国中医信息杂志, 2009, 16(6):51.

[责任编辑 刘德文]