

减味锡类散栓剂质量标准研究

丁晓瑜¹, 陈钧^{1*}, 刘一丹¹, 郭丹钊^{1,2}, 杨学娟¹

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212313; 2. 河南科技学院生科院, 河南 新乡 453003)

[摘要] 目的: 建立减味锡类散栓剂的质量标准。方法: 采用 TLC 法对制剂中的青黛、牛黄、冰片进行定性鉴别。用 HPLC 对制剂中的靛玉红进行含量测定。色谱柱为 SinoChrom ODS-AP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-1% 醋酸水溶液 (81:19), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 288 nm, 柱温为室温。结果: 定性鉴别薄层色谱特征明显。靛玉红在 0.2 ~ 10.8 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9995$), 平均回收率为 100.95% (RSD 1.12%, $n=6$)。结论: 该方法简单、准确、重复性好, 可作为减味锡类散栓剂的质量控制方法。

[关键词] 减味锡类散栓剂; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 靛玉红

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0097-03

Studies on Quality Control Standard of Modified Xileisan Suppository

DING Xiao-yu¹, CHEN Jun^{1*}, LIU Yi-dan¹, GUO Dan-zhao^{1,2}, YANG Xue-juan¹

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. College of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of modified xileisan suppository. **Method:** Indigo Naturalis, Calculus Bovis, and borneol in this preparation were identified by TLC. The content of indirubin in Modified Xileisan Suppository was determined by HPLC which was performed on a Sino Chrom ODS-AP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column with a mobile phase of methanol-1% acetic acid solution (81:19) at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was 288 nm, and the column temperature was room temperature. **Result:** Characteristics of identification were very obviously. The linear ranged from 0.2 mg·L⁻¹ to 10.8 mg·L⁻¹ ($r=0.9995$) and the average recovery was 100.95% (RSD 1.12%, $n=6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate, good reproducibility, and

[收稿日期] 201103171(009)

[通讯作者] * 陈钧, 男, 教授, 博士生导师, 从事现代药理与剂型研究, Tel: 0511-88780196, E-mail: syxchenjun@126.com

6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-二环[3.1.1]庚-2-烯 (22.25%) 等, 所鉴别的成分占全油的 91.81%, 化合物类型以烯烃、芳香化合物、酯、醇、酮、脂肪酸等为主。

本实验从广西产黄皮叶挥发油中共鉴定出 44 种化学成分, 根据相关文献报道^[2-3], 与广东产黄皮叶挥发油成分相同的仅 3 种, 与云南产黄皮叶挥发油成分相同的仅 10 种, 差距较大, 可能与植物所处生态环境不同有关。

[参考文献]

[1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准: 第 2 册

[S]. 1996: 205.

[2] 罗辉, 蔡春, 张建和, 等. 黄皮叶挥发油化学成分研究 [J]. 中药材, 1998, 21(8): 405.

[3] 纳智. 三种黄皮属植物叶挥发油化学成分的研究 [J]. 生物化学工程, 2006, 40(2): 19.

[4] 丛浦珠, 苏克曼. 分析化学手册. 第 9 分册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.

[5] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.

[责任编辑 蔡仲德]

can be used as quality control for Modified Xileisan Suppository.

[Key words] modified xileisan suppository; quality standard; TLC; HPLC; indirubin

减味锡类散栓剂是根据卫生部《药品标准》中药成方制剂收载的“锡类散”进行减味和剂型改革而成,由青黛提取物、牛黄、冰片、珍珠粉组成。锡类散原载清朝尤在泾《金匱翼》一书,具有清热解毒、活血止痛、托毒排脓、祛腐生肌之功效^[1]。减味锡类散近年来在临床上用于治疗宫颈糜烂,收到了显著的临床效果^[2]。为了能有效地控制制剂的质量,本文采用薄层色谱法对制剂中的青黛、牛黄、冰片进行定性鉴别,采用 HPLC 测定靛玉红的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津公司 LC-20AT 型高效液相色谱仪(N2000 色谱工作站、LC-20A 检测器), Shimadzu UV2550 型紫外分光光度计, AT-201 型电子分析天平($d=0.01$ mg, 瑞士)。

1.2 试剂 供试药品减味锡类散栓为江苏大学药学院自制制剂(批号为 100301, 100302, 100303), 靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 110717-200204), 胆红素对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 100077-200503), 冰片对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 10743-200303), 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂, 批号 20100201)。

2 薄层色谱法定性鉴别

2.1 青黛的薄层鉴别^[3] 取本品 1 枚, 切碎, 研细, 加三氯甲烷 5 mL, 充分搅拌, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取缺青黛提取物的阴性对照样品 1 枚, 同法制成阴性对照溶液。再取靛玉红对照品, 加三氯甲烷超声 30 min 使其溶解, 配制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$ 沸程)-甲醇(7:2:1)为展开剂, 展开, 展距为 7 cm 左右, 取出, 晾干, 在日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

2.2 牛黄的薄层鉴别^[4] 取本品 1 枚, 切碎, 研细, 加三氯甲烷-冰醋酸(4:1)5 mL, 超声处理 5 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取缺牛黄药材的阴性对照样品 1 枚, 同法制成阴性对照溶液。再取胆红素对照品适量, 加入三氯甲烷-冰醋酸(4:1), 超声 5 分钟使其溶解, 配制成 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。吸

取上述 3 种溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸(10:3:0.1:0.1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

2.3 冰片的薄层鉴别^[5] 取本品一枚, 切碎, 研细, 加乙醚 15 mL, 冷浸 30 min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加 1 mL 三氯甲烷使溶解, 作为供试品溶液。另取缺冰片药材的阴性对照样品一枚, 同法制成阴性对照溶液。再取冰片对照品适量, 加入石油醚 5 mL, 配制成 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。分别吸取上述三种溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯(9:1:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 1% 香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 5 min, 日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

3 靛玉红含量测定

3.1 色谱条件^[6] 大连依利特 Sino Chrom ODS-AP C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-1% 醋酸水溶液(81:19), 流速 0.8 mL \cdot min⁻¹, 检测波长 288 nm, 柱温室温, 进样量 20 μL 。理论板数按靛玉红峰计算不低于 3 000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取靛玉红对照品 2.63 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液(质量浓度为 $0.1052 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3.3 供试品溶液的制备 取本品 10 枚, 切碎, 研细, 精密称取粉末 1.00 g, 置 50 mL 量瓶中, 分别用甲醇定容至 50 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量。摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.4 阴性对照溶液的制备 按照制备工艺, 依法制成缺青黛的阴性样品, 然后按 3.3 项的制备方法, 制成缺青黛阴性样品溶液。

3.5 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 0.1, 0.5, 1.5, 2.5, 3.5, 5.0 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别吸取 20 μL , 依次注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定, 以靛玉红对照品质量浓度 $X(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ 为横坐标, 峰面积积

分值 Y 为纵坐标,绘制标定曲线,得回归方程为 $Y = 143\ 398X - 19\ 192$ ($r = 0.999\ 5$),靛玉红质量浓度在 $0.21 \sim 10.52\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.6 精密度试验 对同一对照品溶液,按上述色谱条件,连续进样 5 次,5 次测定的 RSD 1.22%,试验表明,本法的精密度良好。

3.7 重复性试验 取同一批样品 6 份,按供试品溶液项下方法分别制备样品溶液,按上述色谱条件进行测定,计算靛玉红的含量,结果 RSD 1.94%,表明方法重复性良好。

3.8 稳定性试验 在 0,4,8,12,24 h 分别精密吸取同一批号(100304)供试品溶液 $20\ \mu\text{L}$ 进行测定,结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定,峰面积 RSD 1.50%。

3.9 加样回收率测定 精密称取已知含量的供试品(批号 100304) $0.3\ \text{g}$,精密加入靛玉红对照品溶液 $4\ \text{mL}$ (取 $5\ \text{mL}$ 对照品储备液用甲醇定容至 $25\ \text{mL}$ 量瓶),按供试品溶液项下方法分别制备供试品溶液,依法测定,计算,结果见表 1。

表 1 样品中靛玉红的回收率

No.	称样量 /g	样品中 含量 /μg	加入量 /μg	测得 总量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.3013	68.6154	84.1600	153.9556	101.72		
2	0.3053	69.5257	84.1600	153.4910	99.72		
3	0.3007	68.4788	84.1600	152.7895	100.22	100.95	1.12
4	0.3058	69.6429	84.1600	154.9659	101.67		
5	0.3045	69.3468	84.1600	155.1989	102.44		
6	0.3063	69.7568	84.1600	153.8680	99.93		

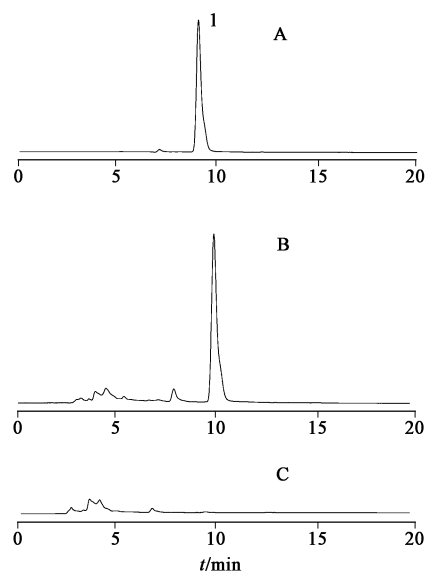
3.10 专属性试验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液进样 $20\ \mu\text{L}$,结果阴性对照样品在靛玉红出峰位置无吸收峰,表明其他成分对测定无干扰(图 1)。

3.11 样品测定 取 3 批样品,按供试品溶液制备方法制备,分别进样 $20\ \mu\text{L}$,测得 3 批供试品中靛玉红的含量分别为 $261.03, 260.03, 260.96\ \mu\text{g}/\text{粒}$ 。

4 结论与讨论

4.1 检测波长的选择 取靛玉红对照品溶液在 $200 \sim 600\ \text{nm}$ 进行紫外吸收光谱的扫描,扫描在 $288\ \text{nm}$ 有最大吸收,且阴性无干扰,故选择测定波长 $288\ \text{nm}$ 。

4.2 供试品制备方法的优选 分别使用甲醇,乙醇



A. 对照品;B. 供试品;C. 阳性;1. 靛玉红

图 1 减味锡类散色谱

和乙酸乙酯对供试品中靛玉红进行超声提取,结果表明甲醇和乙酸乙酯的提取效率较好,为了便于测定,选用甲醇为提取溶液。另外对不同的提取时间进行了比较,结果超声提取 30 min 已经能够提取完全,故供试品的制备采用甲醇超声处理 30 min 为最佳。

本方为中药复方制剂,采用薄层色谱鉴别方法对方中青黛,牛黄,冰片进行鉴别,并进行了阴性对照试验,结果方法简便且专属性强。采用高效液相色谱法对方中青黛的靛玉红进行测定,操作简单,结果准确,重复性好,能有效地控制产品质量。

[参考文献]

- [1] 朱萱萱,邱召娟,支月芳,等. 锡类散治疗慢性宫颈炎的实验研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(10):1908.
- [2] 张秋莲. 外用锡类散治疗重度宫颈糜烂 50 例[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(2):17.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典中药薄层色谱彩色图集[M]. 北京:化学工业出版社, 2005: 55.
- [4] 曹谷珍,倪萍,杨冬青. 感冒通片中胆红素的鉴别及含量测定[J]. 中成药, 1998, 20(1): 15.
- [5] 张治军,饶伟文. 冰片及其掺伪物的快速检验方法探讨[J]. 药品检验, 2006, 3(7): 59.
- [6] P Zou, Y Hong, H L koh. Chemical fingerprinting of *Isatis indigotica* root by RP-HPLC and hierarchical clustering analysis[J]. J P B Ana, 2005, 38:514.

[责任编辑 蔡仲德]