

妇科栓剂的质量标准研究

袁捷^{1,2}, 李婧¹, 黄松^{1,2*}, 陈吉航¹, 黄孟秋¹

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的: 研究妇科栓剂的质量标准, 以更好控制产品质量。方法: 建立黄连、黄柏、苦参、蛇床子的薄层色谱法 (TLC) 和龙胆苦苷的高效液相色谱含量测定方法。结果: TLC 法可检出黄连黄柏、苦参、蛇床子, 斑点清晰, 阴性对照无干扰专属性强。龙胆苦苷在 0.688 ~ 6.880 μg 线性良好 ($r=0.9999$), 平均加样回收率为 101.91%, RSD 为 2.00% ($n=6$)。结论: 试验方法定性、定量方法简单、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 妇科栓剂; 薄层鉴别; 龙胆苦苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0068-03

Study on Quality Standard of Fuke Suppository

YUAN Jie^{1,2}, LI Jing¹, HUANG Song^{1,2*}, CHEN Ji-hang¹, HUANG Meng-qiu¹

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematical Engineering Academy of Chinese Medicine and Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To study the qualitative standard of Fuke suppository, so as to better control the quality of this product. **Method:** To establish the thin layer chromatography (TLC) for *Rhizoma Coptidis*, *Cortex Phellodendri Chinensis*, *Radix Sophorae Flavescentis*, *Fructus Cnidii*, and determination method for gentiopiricin by the high performance liquid chromatography (HPLC). **Result:** The TLC method could well identify *Rhizoma Coptidis*, *Cortex Phellodendri Chinensis*, *Radix Sophorae Flavescentis*, *Fructus Cnidii*, with clear spots, non-interference of negative controls and good specificity. Gentiopiricin was linear in the range of 0.688 ~ 6.880 μg , with a good correlation coefficient ($r=0.9999$). The average recovery is 101.91%, RSD as 2.00% ($n=6$). **Conclusion:** This method is simple, reliable and precise, can be used for qualitative control of this preparation.

[Key words] Fuke suppository; TLC; gentiopiricin; HPLC

妇科栓剂为广州中医药大学新药开发中心研制的复方中药栓剂, 该制剂由湖南某中医院临床验方开发而成, 该方在临床上使用多年, 具有清热解毒, 消炎止痛, 杀虫止痒, 消肿止痛之功效, 对治疗霉菌性, 滴虫性, 细菌性阴道炎, 宫颈炎, 外阴瘙痒, 湿疹等病症效果十分显著, 并对淋病具有辅助治疗作用。

本试验建立了龙胆的主要成分龙胆苦苷的含量测定方法以及黄连、黄柏、苦参、蛇床子的薄层鉴别方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 SHIMADZU 高效液相色谱仪 (日本岛津公司), LC-20AT 泵, SIL-20A 自动进样器, SPD-20A 紫外-可见光检测器, Aquapro 艾科浦 u 系列纯水机, CP225D 1/10 万电子天平 (德国 Sartorius 公司), 硅胶 G, 硅胶 GF254 (青岛海洋化工厂生产)。

1.2 试剂 黄柏 (121510-200501), 黄连 (120913-200407), 苦参 (121019-200304), 蛇床子 (121030-200405), 盐酸小檗碱 (批号 110713-200208), 苦参碱 (批号 110805-200306), 龙胆苦苷 (110770-200611), 蛇床子素 (110822-200305) 均由中国药品

[收稿日期] 20100515(001)

[第一作者] 袁捷, 副研究员, 医学博士, 主要研究方向为中药新药开发研究, Tel: 13622888589, E-mail: yuanjie16881688@163.net

[通讯作者] * 黄松, 助理研究员, 博士, 主要研究方向为新药研究开发与植化, Tel: 020-32503212, E-mail: hsl318@yahoo.com.cn

生物制品检定所提供;甲醇、乙腈(色谱纯,德国默克公司),其余试剂均为分析纯,妇科栓剂为广州中医药大学新药开发研究中心的中试样品。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 黄连黄柏的薄层鉴别 取 3 个批号的本品各 4.5 g,加稀盐酸溶液 100 mL,加热使溶解,超声 30 min,静置过滤,取滤液 20 mL,水浴蒸干,加甲醇 2 mL 使溶解。滤液作为供试品溶液。另取黄连黄柏对照品药材各 0.1 g,同法制成对照药材溶液。另取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。再取去黄连黄柏的模拟处方,按供试品溶液的制备方法,依法制备阴性对照品溶液。吸取上述六种溶液各 $1 \mu\text{L}$,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-异丙醇(6:3:2:1.5)为展开剂加入双槽展开缸中,另一槽内加入等体积的浓氨试液,预饱和 15 min,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)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,阴性对照无干扰。

2.1.2 苦参的薄层鉴别 取 3 个批号的栓剂样品 3 g,加蒸馏水 3.0 mL 水浴溶解,加浓氨溶液 0.3 mL 混匀,用等量递增法加 10 g 硅藻土充分分散,并于水浴上挥干,移至具塞锥形瓶,用 70 mL 氯仿洗蒸发皿,超声 30 min,静置,滤过,蒸干,加 5 mL 无水乙醇溶解作为供试品溶液。另取苦参对照药材粉末 0.5 g,加浓氨试液 0.3 mL、三氯甲烷 25 mL,超声处理 20 min,静置,滤过,蒸干,残渣加乙醇 0.5 mL 使溶解,作为对照药材溶液。另取苦参碱对照品,加乙醇制成 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。再取去苦参的模拟处方,按供试品溶液的制备方法,依法制备阴性对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 $8 \mu\text{L}$,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮-乙酸乙酯-浓氨试液(2:3:4:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,依次喷以碘化铋钾试液和亚硝酸钠乙醇试液。供试品色谱中,在与对照药材溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,在与对照品色谱相应的位置上,也显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。

2.1.3 蛇床子的薄层色谱鉴别 取 3 个批号的栓剂样品 3.0 g,加乙醇 5.0 mL,使溶解,超声处理 5 min,冰箱里($10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下)放置 30 min,取上清液并浓缩至 2 mL 作为供试品溶液。另取蛇床子对照药材

粉末 0.3 g,同法制成对照药材溶液。另取蛇床子素对照品,加乙醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。再取去蛇床子的模拟处方,照供试品溶液制备方法制成阴性样品。吸取上述 6 种溶液各 $2 \mu\text{L}$,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-正己烷(3:3:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。

2.2 龙胆苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 采用 Kromasil 100-5 C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, $5 \mu\text{m}$);以甲醇-水(3:7)为流动相;检测波长为 270 nm;流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温室温($25 \text{ }^{\circ}\text{C}$)。

2.2.2 龙胆苦苷对照品溶液的制备 精密称取龙胆苦苷对照品适量,加甲醇制成 $6.88 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的龙胆苦苷的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 粒,精密称定,平均 2.49125 g/粒 ,切碎,研匀取约 2 g,精密称定,置 100 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇 20.0 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 100 kHz) 30 min,放置至室温,再称定质量,用甲醇补足失去质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 专属性试验 按处方比例和工艺,同法制成全方缺龙胆的阴性样品,按样品供试品溶液的制备方法制备。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 $10 \mu\text{L}$,按 2.2.1 项下色谱条件,注入液相色谱仪,记录色谱图。阴性样品在龙胆苦苷出峰处无色谱峰,说明处方中的其他成分对测定结果无影响。龙胆苦苷对照品、供试品、和阴性对照品的 HPLC 图谱分别见图 1。

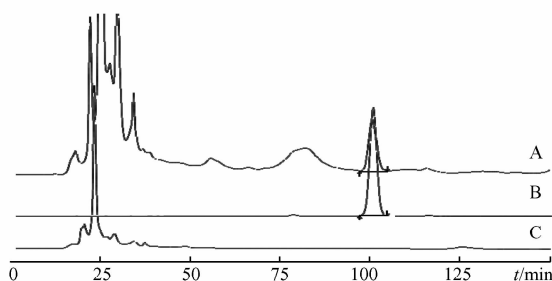


图 1 妇科栓剂 HPLC 图谱

A. 栓剂样品;B. 龙胆苦苷对照品;C. 缺龙胆阴性供试品

2.2.5 线性关系考察 精密量取 2.2.2 项下对照品溶液 1, 3, 5, 7, 10 mL, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇定

容至刻度,制成不同浓度对照品溶液,精密吸取 10 μL ,分别进样,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,分别记录峰面积积分值,测定,以峰面积为纵坐标,进样量(μg)为横坐标绘制标准曲线。得回归方程为 $Y = 1\,041\,999.071\,711X + 22\,688.516\,39$,线性范围为 0.688 ~ 6.880 μg , $r = 0.999\,9$;表明龙胆苦苣在 0.688 ~ 6.880 μg 内线性关系良好。

2.2.6 精密密度试验 精密吸取龙胆苦苣对照品溶液 10 μL ,连续进样 6 次,以峰面积计算龙胆苦苣的 RSD 为 1.10%;将龙胆苦苣对照品溶液在 7 日内连续测定 6 次,以峰面积计算龙胆苦苣的 RSD 为 2.05%。结果表明日内精密度和日间精密密度均良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品(批号中试 1),按 2.2.3 项下方法制成供试品溶液共 5 份,分别测得龙胆苦苣含量平均值分别为 0.89 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.57%。结果表明重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液(批号中试 1),分别于 0,2,4,6,8,10,12,24 h 进样测定。结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定,龙胆苦苣峰面积的 RSD($n = 8$)分别为 1.43%。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号中试 1),切碎,研匀,取约 1.0 g,共 6 份,精密称定,每份样品分别加入精密称取的龙胆苦苣对照品。按 2.2.3 项下方法制备溶液,分别进样测定,计算平均回收率为 101.91%,RSD 2.00%。结果见表 1。

2.2.10 样品的测定 对 3 批妇科栓剂中试样品进行含量测定,每批样品取 5 份,用外标法计算,结果 3 批样品中龙胆苦苣平均含量分别为 0.89,0.92,0.95 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 1.57%,1.35%,1.49%。

3 讨论

黄连和黄柏中都含有盐酸小檗碱,单独鉴别时产生相互干扰,因此采用 2 味药材同时鉴别,结果薄层色谱中斑点分离良好,阴性样品无干扰。在盐酸

表 1 龙胆苦苣加样回收率测定

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.023	0.91	1.02	1.898	104.86	101.91	2.00
1.053	0.94	1.10	2.07	102.98		
0.994	0.88	1.04	1.95	102.44		
1.015	0.90	0.98	1.87	98.64		
1.030	0.92	0.96	1.89	101.39		
1.043	0.93	1.07	2.01	100.94		

小檗碱的鉴别中,提取样品时选用稀盐酸而不用常规的甲醇进行提取,是因该妇科栓剂的基质不溶于水而极易溶于甲醇等极性大的有机溶剂里。薄层层析时,经过多次试验,总结了湿度对盐酸小檗碱的分离影响大,本试验得出最佳的分离湿度是 42%。

在苦参的鉴别中,先参考药典^[1](2005 年版)里的展开剂进行展开,同时参考唐晓^[2]、张涛^[3]等人文献资料,两者进行比较,结果表明用一个展开剂甲苯-丙酮-乙酸乙酯-浓氨试液(2:3:4:0.4)进行一次展开就可得到良好的清晰的斑点,与药典的二次展开相比,该方法更加简便易行。

在蛇床子的鉴别中,对妇科栓剂样品进行提取时,提取前可以省去除基质这一步骤,通过在冰箱里放置使部分基质析出,过滤,从而得到纯化,结果斑点清晰,方法简便,同时也节省了对试剂的使用。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2005:141.
 [2] 唐晓,李红.阴痒清洗液的质量标准研究[J].广西医学,1998,20(2):221.
 [3] 张涛,聂诗明,叶勇等.复方中药栓剂的质量标准研究[J].江汉大学学报,2006,33(2):62.

[责任编辑 顾雪竹]