

# 六味洗剂的质量标准研究

张爱军<sup>1\*</sup>, 张薇<sup>2</sup>, 李兴华<sup>1</sup>, 王香兰<sup>1</sup>

(1. 西安交通大学医学院第二附属医院, 陕西 西安 710004; 2. 西安电力医院, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的: 制定六味洗剂的质量控制标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别处方诸药, 反相高效液相色谱法测定没食子酸含量。结果: 没食子酸浓度在 0.16~0.64 μg/mL 范围内与吸收峰面积线性关系良好, 标准曲线为  $Y = -16887.5X + 418327$ ,  $r = 0.9997$ , 平均回收率为 99.45%, RSD=1.12%。结论: 六味洗剂质量控制方法准确可靠, 分离度好。

[关键词] 六味洗剂; 没食子酸; 质量标准

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)06-0007-03

## The Study on Quality Standards of Liuwei Lotion

ZHANG Ai-jun<sup>1\*</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, LI Xing-hua<sup>1</sup>, WANG Xiang-lan<sup>1</sup>

(The Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

[Abstract] **Objective:** To formulate the quality standard of Liuwei Lotion. **Methods:** Thin layer chromatography (TLC) was used to identify each herbal in the lotion. Gallic acid concentration was measured by RP-HPLC. **Result:** The concentration of gallic acid ranging from 0.16 to 0.64 μg/mL, showed good linear relation with the peak area. The standard curve was  $Y = -16887.5X + 418327$ ,  $r = 0.9997$ . The average recovery was 99.45%, RSD=1.12%. **Conclusion:** The methods of quality control were accurate and reliable.

[Key words] Liuwei Lotion; gallic acid; quality standard

六味洗剂是我院研制的中药外用复方制剂, 由黄柏、地榆、苦参等组成。具有清热、利湿、消炎、收敛之功效, 对多种皮肤病症如湿疹、皮炎、瘙痒等症有较好疗效。本制剂以煎煮法提取处方中的有效成分并制成洗剂, 制订了相应的质量控制标准。

### 1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪: 510 高压泵, 486 紫外-可见光检测器, 7725 型进样阀, PC800 色谱工作站, AEG-220 电子分析天平(日本岛津), PHS-3C 数字式酸度计(上海雷磁仪器厂), 超声药品处理机(济宁金百特电子责任有限公司); 黄柏、苍术对照药材和没食子酸、苦参碱、盐酸小檗碱对照品(中国药品生物

制品检定所), 其余试剂均为分析纯。

### 2 制备工艺

取黄柏、地榆、五倍子、苦参、藏青果、苍术各 50 g, 加水后置超声波处理机中处理 30 min, 煎煮 2 次, 每次 60 min, 过滤, 合并 2 次滤液并浓缩至一定体积, 离心过滤, 加入甘油 50 g, 尼泊金乙酯 1 g, 加纯化水至 1 000 mL, 分装即得。

### 3 质量标准

**3.1 黄柏 TLC 鉴别** 取本品 2 mL, 水浴蒸干后, 加甲醇 10 mL 溶解, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取不含黄柏的药液依法制成阴性供试品溶液。再取盐酸小檗碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 2 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:6:1:1)为展开剂, 置氨蒸汽预饱和的展开缸内展开, 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

[收稿日期] 2006-09-21

[基金项目] 西安市科技计划项目(SF200238)

[通讯作者] \* 张爱军, Tel: (029) 87679398; E-mail: zhangaj2005@163.com

谱相应的位置上, 显相同的黄色荧光斑点。

**3.2 苦参 TLC 鉴别** 取本品 10 mL, 水浴蒸干, 加氨试液 0.3 mL, 三氯甲烷 25 mL, 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。以不含苦参的药液依法制成阴性样品溶液。分别吸取上述溶液各 4  $\mu$ L, 点于同一用 2% 氢氧化钠溶液制成的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮-甲醇(8:3:0.5) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 再以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-水(2:4:2:1) 10  $^{\circ}$ C 以下放置的上层溶液为展开剂, 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, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的橙色斑点。

**3.3 苍术 TLC 鉴别** 取本品 10 mL, 水浴蒸干, 加正己烷 2 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取苍术对照药材 0.5 g, 加正己烷 2 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液作为对照药材溶液。以不含苍术的药液依法制成阴性样品溶液。吸取上述溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(20:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 对二甲氨基苯甲醛的 10% 硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点; 并有一相同的污绿色主斑点。

### 3.4 没食子酸的含量测定

**3.4.1 色谱条件:** Kromasol C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  200 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(15:85), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 273 nm, 进样量: 10  $\mu$ L。

**3.4.2 溶液的制备** 对照品溶液的制备: 精密称取恒重的没食子酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 40  $\mu$ g 的溶液, 备用。

供试品溶液的制备: 精密量取本品 10 mL, 精密加入 4 mol/L 盐酸溶液 50 mL, 水浴加热水解 3.5 h, 放冷, 滤过。精密量取续滤液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得。另按处方取黄柏、苦参、苍术, 按照六味洗剂的制备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性供试品溶液。

**3.4.3 系统适应性试验** 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 10  $\mu$ L 注入色谱仪, 记录色谱图, 见图 4、图 5。从图中可见, 没食子酸在本实验条件下能完全分离, 其保留时间为 5.45 min, 理

论板数以没食子酸峰计大于 3 000。供试品溶液的保留时间与对照品图谱一致, 阴性供试品溶液无干扰。

**3.4.4 线性关系考察** 分别精密吸取上述对照品储备液 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积  $Y$  为纵坐标, 进样量  $X$  为横坐标进行线性回归, 回归方程为  $Y = -16\,887.5X + 418\,327$ ,  $r = 0.999\,7$ , 线性范围 0.16~0.64  $\mu$ g。

**3.4.5 精密度实验** 精密吸取没食子酸对照品溶液 10  $\mu$ L, 重复进样 5 次, 峰面积积分值的 RSD = 0.83%。

**3.4.6 稳定性考察** 取供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 8 h 进样 10  $\mu$ L, 测定峰面积。结果没食子酸峰面积积分值的 RSD 分别 = 0.91%。

**3.4.7 重复性实验** 取同 1 批号样品, 按供试品溶液制备方法制备 5 份供试品溶液, 分别进样测定, 没食子酸的平均含量为 0.791 8 (mg/mL), RSD = 1.05%。

**3.4.8 加样回收率实验** 精密称取已知含量的样品 5 份, 分别加入没食子酸对照品适量, 按供试品溶液制备方法制备成溶液后, 照上述色谱条件测定 5 次, 计算平均回收率。结果, 没食子酸的平均回收率为 99.45%, RSD = 1.12%。结果见表 1。

表 1 没食子酸加样回收率试验结果( $n = 5$ )

编号	样品含量 (mg/mL)	加入量 (mg)	测得量 (mg/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.702 9	0.698 3	1.405 7	100.32		
2	0.702 9	0.706 7	1.408 1	99.89		
3	0.702 9	0.699 7	1.392 6	98.57	99.45	1.12
4	0.702 9	0.701 5	1.382 4	98.43		
5	0.702 9	0.701 5	1.382 4	100.06		

**3.4.9 供试品的测定** 分别量取 3 个批号的六味洗剂, 按“供试品溶液制备”项下的方法制备供试品溶液, 45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液进样 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪测定, 结果供试品中没食子酸的含量分别为 0.813 2, 0.771 6, 0.802 1 (mg/mL,  $n = 3$ ), 平均含量为 0.795 6  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

## 4 讨论

处方中诸药均有良好的清热、抗菌、消炎和收敛作用, 其中黄柏的主要成分是小檗碱、药根碱、黄柏碱等, 具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的功效; 苦参含有苦参碱、氧化苦参碱及黄酮类成分, 用于皮肤

瘙痒、湿疹疥癬等症；苍术为芳香化湿药，主含挥发油，具有芳香化浊、祛风辟秽、燥湿健脾的作用；地榆、五倍子、藏青果均含有较多鞣质，能止血收敛，解毒抗菌<sup>[1]</sup>。由于鞣质具有多种独特的生物学活性，且为本方中的一类主要成分，故测定没食子酸含量，确保本制剂的疗效。

文献报道没食子酸的测定方法很多，主要以薄层扫描法和高效液相法<sup>[2,4]</sup>为主。本文参考中国药典中没食子酸的含量测定方法，流动相为甲醇：0.1%磷酸溶液(15:85)，基本没有杂质峰干扰。

## [参考文献]

- [1] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1997. 310-311, 314-319, 517-520.
- [2] 蔡毓琼, 王梅. 薄层扫描测定余甘子喉片中没食子酸的含量[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(5): 344.
- [3] 李曼玲, 李铁林, 冯伟红, 等. 含大黄复方制剂中没食子酸的定性定量方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(6): 12-13.
- [4] 苗爱东, 王本富, 高晓黎. 反相 HPLC 法测定妇康栓中没食子酸的含量[J]. 西北药学杂志, 2000, 15(6): 247.