

清毒百炎消软膏质量标准的研究

王煊镇¹, 盛晓静^{2△}, 刘 薇², 张晓云²

(1. 九江县中医医院, 江西九江 332100; 2. 九江市食品药品检验所, 江西九江 332000)

摘要: 目的 提高清毒百炎消软膏质量标准。方法 对处方中半边莲药材进行 TLC 鉴别, 用 HPLC 测定绿原酸含量。结果 薄层色谱斑点清晰, 专属性强; 绿原酸的含量测定范围在 0.07288 μ g~1.458 μ g 线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.80%, RSD 为 0.5%。结论 方法简便准确, 可用于清毒百炎消软膏的质量控制。

关键词: 清毒百炎消软膏; 质量标准; 半边莲; 绿原酸

中图分类号: R285.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)05-0036-03

清毒百炎消软膏为九江市第一人民医院制剂, 临床应用多年, 处方由半边莲、野葡萄根、金银花、蒲公英、薄荷油组成, 具消炎、消肿、止痛、排脓、祛腐生肌的功效, 外用于治疗蛇虫咬伤、疖肿、痔疮脱肛、脚气感染、软组织损伤等。原标准仅对处方中野葡萄根、金银花、蒲公英进行了显微鉴别, 本文采用 TLC 对半边莲进行了定性鉴别, 用 HPLC 测定金银花及蒲公英中绿原酸含量, 为更好地控制制剂质量提供了实验方法。

1 仪器和试药

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪(e2695 分离模块、2489 检测器、empower 工作站); TU-1901 型双光束紫外可见光分光光度计; Sartorius Bp211D 分析天平; YIY-ul 300W-C 型超声波清洗机; CAMAG TLC VISUALIZER 薄层色谱成像系统。

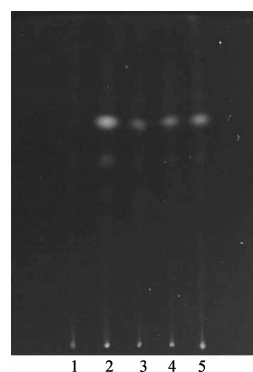
1.2 试药

重蒸水、色谱甲醇、薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工厂生产, 化学纯), 其它试剂均为分析纯。半边莲对照药材、绿原酸对照品(均由中国药品生物制品检定所提供, 批号分别为 121142-200903、110885-200102); 清毒百炎消软膏(批号分别为 201308、201309、201310, 均由九江市第一人民医院制剂室生产)。

2 薄层鉴别^[1-3]

取本品 3.5g, 加水 100mL, 煎煮 30min, 趁热滤

过, 滤液浓缩至 50mL, 冷却, 用氨试液调节 pH 值至 11, 用三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 25mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取半边莲对照药材 1g, 缺半边莲的阴性样品 3.5g, 同法制成对照药材溶液及阴性对照样品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2010 年版一部附录 VI B)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, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-丙酮(2:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365nm)下检视。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。经重复性试验, 3 批样品均在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性对照样品无干扰。见图 1。



1. 缺半边莲的阴性对照; 2. 半边莲对照药材;
3-5. 清毒百炎消软膏

图 1 清毒百炎消膏剂中半边莲 TLC 鉴别图

收稿日期: 2014-09-03

作者简介: 王煊镇(1972-), 男, 江西九江人, 主管药剂师, 研究方向: 医院制剂的研发与质量控制。

△通信作者: 盛晓静, E-mail: shengxj11@163.com。

3 含量测定^[4-8]

3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Thermo Hypeisil GOLD 色谱柱,Dim.(mm)250×4.6;流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(8:92);检测波长为327nm;理论板数按绿原酸峰计算应不低于3000。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸对照品适量,加甲醇制成每1mL含35μg的溶液,即得。

3.3 供试品溶液的制备

取本品适量,混匀,取约2.5g,精密称定,置50mL量瓶中,加入甲醇45mL,超声处理(功率400W,频率32kHz)1h,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.4 阴性对照试验

取照工艺要求制备的缺金银花和蒲公英的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性

对照溶液各10μL进行高效液相色谱试验,所得阴性对照色谱图中,在清毒百炎消膏剂色谱图中绿原酸的出峰位置上未出现吸收峰,表明处方中其它药材对绿原酸的含量测定无干扰。见图2。

3.5 线性关系的考察

精密吸取浓度为0.3644mg/mL的绿原酸对照品溶液1,1,1,1,2mL分别置50,25,10,5,5mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制得5种不同浓度的对照品溶液,分别进样10uL,测定其峰面积,结果见表1。

表1 线性关系考察结果

对照品的量/μg	峰面积积分值
0.07288	230096
0.1458	452910
0.3644	1204786
0.7288	2336060
1.458	4624034

以2次测定的峰面积均值为纵座标、绿原酸的量为横座标进行线性回归,得回归方程为: $Y=3.171 \times 10^6 X + 1.291 \times 10^4$ $r=0.9999$ 。结果表明,绿原酸的量在0.07288μg~1.458μg范围内与所测得的峰面积呈良好的线性关系。

3.6 精密度试验

精密吸取对照品溶液10μL进样,同一对照品溶液重复进样5次,按上述色谱条件测定峰面积积分值,结果见表2。

表2 精密度试验结果

序号	峰面积	峰面积平均值	RSD/%
1	1230708	1233334	0.5
3	1242695		
4	1235502		
5	1229811		
6	1227953		

3.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液,在室温下分别在0,2,4,6,12,24h各进样1次,共进样6次,观察供试品溶液中绿原酸在24h内峰面积的变化,结果表明绿原酸峰面积在24h内无明显变化,供试品溶液稳定性好。见表3。

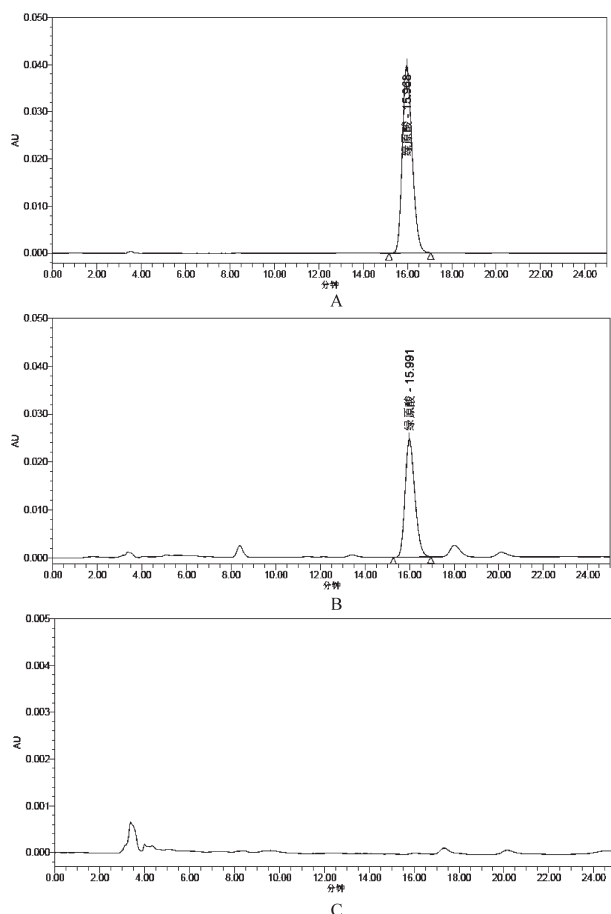


图2 绿原酸对照品(A)、样品(B)及阴性对照品(C)的HPLC色谱图

表 3 稳定性试验结果

进样时间/h	峰面积	峰面积平均值	RSD/%
0	755593		
2	757181		
4	754321		
6	752203	755884	0.4
12	759682		
24	756325		

3.8 重复性试验

取同一批号样品(批号为 201310),按 3.3 项下方法操作,平行制备供试品溶液 6 份,分别测定绿原酸含量。结果测得样品中绿原酸含量平均为 0.4407mg/g, RSD 为 0.5%,见表 4。

表 4 重复性试验结果

序号	测得的含量 /(mg/g)	测得的含量平均值 /(mg/g)	RSD/%
1	0.4433		
2	0.4397		
3	0.4372	0.4407	0.5
4	0.4422		
5	0.4418		
6	0.4402		

3.9 回收率试验

取已知含量的清毒百炎消样品(批号 201310) 1.25g 为 1 份,平行 6 份,精密称定,分别精密添加浓度为 0.1130mg/mL 的绿原酸对照品溶液 5mL,再加甲醇 40mL,按 3.3 方法制成供试品溶液,测定绿原酸含量,计算回收率。结果绿原酸平均回收率为 99.80%, RSD 为 0.5%,表明方法准确度好。见表 5。

表 5 加样回收试验结果

序号	样品中绿 原酸原含 量/mg	添加对照 品的量 /mg	测出绿原 酸的量 /mg	回收 率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
1	0.5562	0.5650	1.1206	99.89		
2	0.5292	0.5650	1.0902	99.29		
3	0.5528	0.5650	1.1200	100.39	99.80	0.5
4	0.5585	0.5650	1.1242	100.12		
5	0.5615	0.5650	1.1246	99.66		
6	0.5591	0.5650	1.1210	99.45		

3.10 样品测定

取样品 3 批,按上述色谱条件和方法测定绿原酸的含量,测定结果见表 6。

表 6 清毒百炎消软膏绿原酸含量测定结果

批号	绿原酸含量/(mg/g)	RSD/%
201308	0.3340	0.7
201309	0.4314	1.4
201310	0.4407	0.4

4 讨论

①半边莲药材为桔梗科植物半边莲的干燥全草,有清热解毒、利尿消肿的功能^[4],是本制剂处方中的君药。我们按《中国药典》2010 年版一部半边莲药材的薄层鉴别方法进行了预试验,结果供试品色谱中,因背景干扰大而导致斑点不清晰,无法准确鉴别,故改变供试品和样品的制备方法,采用对水煎液进行调 pH 值后再萃取的措施,并采用石油醚(60~90℃)-丙酮为展开系统,可以达到有效控制制剂质量的目的。

②考虑到处方中的蒲公英和金银花均含木犀草苷及绿原酸^[9],并且这两种成分都是抗菌消炎的有效成分^[10],故拟对木犀草苷及绿原酸进行含量测定。因在预试验中发现制剂中木犀草苷含量较低,3 批样品初步测定结果分别为 0.008mg/g, 0.010mg/g, 0.011mg/g,无法真实反映制剂内在质量,所以选定含量较高的绿原酸作为含量测定指标,建立了用高效液相色谱法测定清毒百炎消软膏中绿原酸含量的方法。

参考文献:

- [1] 高卫东,吴立蓉. 半边莲配方颗粒的薄层鉴别研究[J]. 中国现代中药, 2011, 13(5): 31-32.
- [2] 陈建新,黄深惠,王英,等. 半边莲化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(11): 1721-1724.
- [3] 隋择,陈国强,王彬彬,等. 白花蛇舌草与其混用品半边莲、半枝莲鉴别方法[J]. 中国药师, 2008, 11(5): 596-597.
- [4] 国家药典委员会. 中国药典.(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 205.
- [5] 杨斌. HPLC 法测定蒲公英中绿原酸的含量[J]. 西北药学杂志, 2009, 24(3): 182-183.
- [6] 陈萍,王建刚. HPLC 法测定蒲公英不同器官中绿原酸的含量[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9600-9601.
- [7] 葛建华,窦志华,罗琳,等. HPLC 法测定茵陈蒿汤中绿原

(下转第 44 页)

- [12] 李琼. 厚朴生姜半夏甘草人参汤治疗慢性胃炎 [J]. 河南中医, 2000(6):15.
- [13] 郭宏强, 刘平予, 张国耀. 厚朴生姜半夏甘草人参汤加減治疗肝癌腹胀 73 例[J]. 中国中医急症, 2006(10):1157-1158.
- [14] 刘晓丽. 顽固性腹胀治验举隅 [J]. 湖北中医杂志, 1992(1):39-40.
- [15] 祝玉清, 张英桃. 中西医结合治疗急性不完全性肠梗阻 23 例疗效观察[J]. 长春中医药大学学报, 2010(1):70-71.
- [16] 清·吴鞠通. 温病条辨[M]. 李玉清, 校注. 北京: 中国医药科技出版社, 2011:160.
- (编辑: 岳胜难)

An Analysis on the Characteristics of Houpo's Effect in Prescriptions of ZHAMG Zhong-jing

ZHAO Yan, CHENG Fa-feng, WANG Qing-guo

(School of Preclinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 10029)

ABSTRACT: The effects of Hou po(Cortex Magnoliae Officinalis) used in the prescriptions of Zhang zhongjing were regulation Qi and descent adverse flow of Qi, elimination stagnation, regulation the vital energy and dissolution the mass. Through the compatibility of different drugs, Houpo plays the different functions with the different doses to cure the disease in tri-jiao. The characteristics of Houpo applied by zhongjing provided a reference for us in cure disease.

KEY WORDS: Houpo; prescriptions of ZHANG Zhong-jing; compatibility of medicines; dose

(上接第 38 页)

- 酸和栀子苷含量[J]. 江苏中医药, 2009, 41(1):57.
- [8] 万文忠, 葛尔宁, 盛振华. 茵陈蒿汤中主要有效成份绿原酸的溶出规律研究 [J]. 云南中医学院学报, 2013, 36(2): 24-26.
- [9] 辛华, 丰杰, 程若敏, 等. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):60.
- [10] 杨欣, 李洪波, 陈诚, 等. 金银花药性与功效的文献考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18):220.
- (编辑: 杨阳)

Study on Quality Standard of Qingdu Baiyanxiao Ointment

WANG Xuan-zhen¹, SHENG Xiao-jing², LIU Wei², Zhang Xiao-yun²

(1. Jiujiang County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiujiang 332100, China;

2. Jiujiang Institute for Food and Drug Control, Jiujiang 332000, China)

ABSTRACT: **Objective** To improve the quality standard for Qingdu Baiyanxiao Ointment. **Methods** Lobelia Chinensis Lour in the prescription was identified by TLC, and the content of chlorogenic acid was determined by HPLC. **Results** TLC spots were clear, with strong specificity. Chlorogenic acid showed a good linear relationship at the range of 0.07288 μ g-1.458 μ g, $r=0.9999$. The average recovery was 99.80% and RSD was 0.5%. **Conclusion** The established method is Simple, accurate, and can be used for the quality control of Qingdu Baiyanxiao Ointment.

KEY WORDS: Qingdu Baiyanxiao ointment; quality standard; Lobelia Chinensis Lour; chlorogenic acid