

金黄散洗剂的制备及质量标准研究

朱春红, 李园, 刘巧, 林景, 周小圆, 苏羽

(海南省皮肤病医院药剂科, 海南 海口 570206)

【摘要】 目的 制备金黄散洗剂并建立金黄散洗剂的质量标准。方法 将姜黄等中药超微粉碎后加混悬剂制备成金黄散洗剂;采用薄层色谱法(TLC)对方中黄柏、甘草和白芷进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定金黄散洗剂中姜黄素、大黄素和厚朴酚的含量。结果 制备的金黄散洗剂微粒细腻均匀,沉降缓慢,稳定性好;在选定的薄层色谱条件下色谱斑点清楚,分离效果较好;姜黄素、大黄素和厚朴酚的质量浓度分别在 17.98~179.82 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$)、11.40~114.00 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$)和 7.08~70.80 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$)内,与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率依次为 101.66%、102.27%和 102.40%,RSD 依次为 0.61%、0.87% 和 0.60%。**结论** 本洗剂制备工艺简便,所建立的质量标准简单、准确,能有效地控制该制剂质量。

【关键词】 金黄散洗剂;质量标准;姜黄素;大黄素;厚朴酚

【中图分类号】 R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2014)17—2552—03

Preparation of Jinhuangsan lotion and the establishment of its quality standard. ZHU Chun-hong, LI Yuan, LIU Qiao, LIN Jing, ZHOU Xiao-yuan, SU Yu. Pharmacy Department, Skin Disease Hospital of Hainan Province, Haikou 570206, Hainan, CHINA

【Abstract】 Objective To prepare Jinhuangsan lotion and to establish its quality standard. **Methods** Curcuma longae rhizoma and other traditional Chinese medicines were ultrafine pulverized, and the suspension was used to prepare Jinhuangsan lotion. TLC was used to identify Phellodendri Chinensis cortex, Glycyrrhiza uralensis and Angelica dahurica in the prescription. HPLC was used to simultaneously determine the concentration of curcumin, emodin and magnolol. **Results** Jinhuangsan lotion showed delicate uniform, slow subsidence and good stability. The chromatographic spots were clear and had good separation effect in the selected TLC conditions. The concentration of curcumin, emodin and magnolol were 17.98~179.82 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$), 11.40~114.00 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$) and 7.08~70.80 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($r=0.9999$) respectively. They all showed a good linear relationship with the peak area. The average recovery rates were 101.66%, 102.27% and 102.40%, with RSD of 0.61%, 0.87% and 0.60%, respectively.

Conclusion It was easy to prepare Jinhuangsan lotion with a simple and accurate quality standard.

【Key words】 Jinhuangsan lotion; Quality standard; Curcumin; Emodin; Magnolol

“如意金黄散”为明代陈实功《外科正宗》所载的疡科要方,由姜黄、大黄、黄柏等十味中药配伍组成,主要用于治疗疮疡肿痛、跌打损伤、乳痈红肿等病症,亦可用于湿疹样皮炎、脓疱疮、单纯疱疹等治疗,临床使用时需临时调剂,使用极为不便,外敷时又易掉药,影响临床应用与药效的发挥。为提高药物疗效和使用方便,在如意金散剂基础上改变剂型制成金黄散洗剂,并对其质量标准进行了研究,为有效控制该制剂质量提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 LC-20AD HPLC 液相色谱仪、SPD-20A 型紫外检测器(日本岛津公司);AL204

METTLER TOLEDO 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);HS6150D 数控超声清洗仪(天津恒奥仪器有限公司)。

1.2 材料 金黄散洗剂(自制,批号 20130520、20130521、20130522);姜黄素(批号 110823~201004)、大黄素(批号 110756~200110)、厚朴酚(批号 110729~200412)、白芷对照药材(批号 120945~201008)、甘草对照药材(批号 120904~201117)、黄柏对照药材(批号 12150~201105),以上对照品均购自中国药品生物制品检定所;黄原胶(江苏神华药业有限公司,批号 130304);色谱乙腈(Fisher 公司),其余试剂均为分析纯,水为自制纯化水。

2 方法

2.1 处方与制备

2.1.1 处方 金黄散200 g(先将姜黄、大黄等10味中药超微粉碎^[1],依《中国药典》2010年版一部“如意金黄散”的处方制备散剂)、黄原胶5 g、乙醇200 g、苯酚10 g、丙二醇50 g、纯化水适量,全量1 000 g。

2.1.2 制备 取黄原胶加适量纯化水制成黄原胶液。取金黄散、乙醇、苯酚、丙二醇及剩余量的水共研成糊状,然后加入黄原胶液,搅拌均匀,即得^[2]。

2.2 定性鉴别

2.2.1 黄柏鉴别 取本品3 g,加甲醇10 ml,超声处理15 min,滤过,滤液浓缩至约1 ml,作为供试品溶液;按处方比例和制备工艺除去黄柏的阴性样品,同法制成黄柏阴性对照溶液;另取黄柏对照药材0.1 g,加甲醇5 ml,同法制成对照药材溶液;再取盐酸小檗碱对照品,用甲醇制得质量浓度为0.5 mg/ml的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录V B)试验,吸取上述供试溶液各1 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯-异丙醇-乙酸乙酯-甲醇-水(12:3:6:4:0.6)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、对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点。阴性样品无干扰。

2.2.2 甘草鉴别 取本品20 g,加三氯甲烷30 ml、盐酸2 ml,加热回流1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣用1 ml乙醇溶解,制成供试品溶液;按处方比例和制备工艺除去甘草的阴性样品,同法制成甘草阴性对照溶液;另取甘草次酸对照品,用无水乙醇得质量浓度为1.0 mg/ml的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录V B)试验,吸取上述供试溶液各1 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(30 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C)-苯-乙酸乙酯-冰醋酸(20:40:14:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%磷钼酸乙醇溶液。在105 $^{\circ}$ C加热5 min。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。阴性样品无干扰。

2.2.3 白芷鉴别 取本品10 g,加乙醚20 ml,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣用1 ml乙酸乙酯溶解,制成供试品溶液;按处方比例和制备工艺除去白芷的阴性样品,按供试品溶液制备方法操作,得白芷阴性对照溶液;另取白芷对照药材0.5 g,加乙醚10 ml,浸渍1 h,时时振摇,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯1 ml使溶解,作为对照药材溶液;再取欧前胡素对照品、异欧前胡素对照品,加乙酸乙酯制成每1 ml各含1 mg的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录V B)试验,吸取上述供试溶液各3 μ l,分别点于同一硅胶G

薄层板上,以石油醚(30 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C)-乙醚(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、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性样品无干扰。

2.3 含量测定 以高效液相色谱法同时测定该洗剂中姜黄素、大黄素和厚朴酚的含量。

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Wondasil TM C18柱(4.6 mm \times 150 mm, 5.0 μ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸=38:62;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μ l;检测波长:254 nm。

2.3.2 溶液的制备

2.3.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取姜黄素9.10 mg(含量98.8%)、大黄素5.70 mg与厚朴酚3.54 mg,置10 ml量瓶,用甲醇溶解并稀释至刻度,即得各个对照品溶液;分别精密量取上述对照品溶液各1 ml置于10 ml量瓶,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2.2 供试品溶液的制备 取本品约5.0 g,精密称定,置50 ml量瓶中,加入甲醇适量,冷浸1 h,超声处理30 min,放至室温,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.3.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除去厚朴、姜黄及大黄外的其他中药,按金黄散洗剂制备方法制成阴性对照样品,按“2.3.2.2”项的方法操作,即得。

2.3.3 方法学验证

2.3.3.1 专属性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,分别按上述色谱条件进样20 μ l,记录色谱图。各组分峰分离度均符合要求,阴性样品无干扰,色谱见图1。

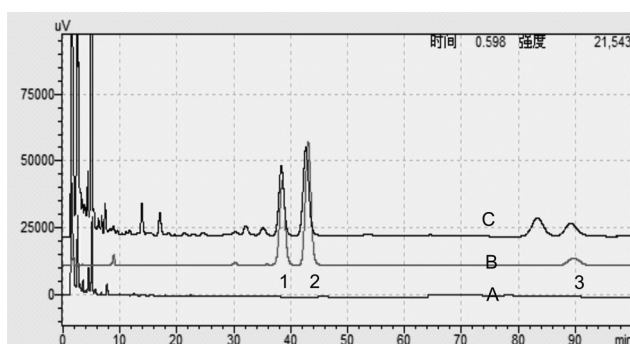


图1 高效液相色谱图

注:A,阴性;B,混合对照品;C,样品;1,姜黄素;2,大黄素;3,厚朴酚。

2.3.3.2 线性关系考察 依次精密吸取以上配好的标准品溶液0.2 ml、0.5 ml、1.0 ml、1.5 ml、2.0 ml置10 ml的量瓶中,以甲醇稀释至刻度,取各浓度的单个对照品溶液20 μ l注入色谱仪,以各对照品面积(Y)对其质量浓度X(μ g/ml)进行线性回归,得回归方程,结果见表1。

表 1 各对照品线性关系考察及回归方程

对照品	回归方程	r 值	线性范围($\mu\text{g/ml}$)
姜黄素	$Y=23778x-3614.2$	0.9999	17.98~179.82
大黄素	$Y=56404x-3696.0$	0.9999	11.40~114.00
厚朴酚	$Y=11766x-696.56$	0.9999	7.08~70.80

2.3.3.3 精密度试验 取“2.3.2.2”项供试品溶液, 20 μl 进样测定峰面积, 重复 6 次。姜黄素、大黄素及厚朴酚峰面积的 RSD 分别为 0.85%、1.22%、1.31% ($n=6$), 表明用本方法测定样品, 精密度较好。

2.3.3.4 稳定性试验 取“2.3.2.2”项下供试品溶液, 分别在配制后 0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h 测定, 分别记录姜黄素、大黄素及厚朴酚的峰面积, 计算 RSD

分别为 0.93%、1.01%、0.84%, 在 24 h 内测定样品稳定。

2.3.3.5 重复性试验 取 6 份供试品(20130522)按“2.3.2.2”项下处理, 依法测定, 并计算结果。姜黄素、大黄素及厚朴酚的含量分别为 0.7131 mg/g、0.4182 mg/g、0.5984 mg/g, RSD 分别为 1.55%、0.89% 和 0.95% ($n=6$)。说明重现性较好。

2.3.3.6 回收率试验 取批号为 20130522 样品 6 份, 各 2.5 g, 精密称定, 置 50 ml 量瓶中, 并分别加入姜黄素储备液 (0.5930 mg/ml)、大黄素储备液 (0.3510 mg/ml) 和厚朴酚储备液 (0.4980 mg/ml) 各 3 ml, 按“2.3.2.2”项下方法处理, 计算各成分的平均加样回收率, 见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=6$)

序号	取样量(g)	样品含量(mg)			测得量(mg)			回收率(%)		
		姜黄素	大黄素	厚朴酚	姜黄素	大黄素	厚朴酚	姜黄素	大黄素	厚朴酚
1	2.5012	1.7836	1.0460	1.4967	3.5818	2.1203	3.0218	101.08	102.02	102.08
2	2.5008	1.7833	1.0458	1.4965	3.6012	2.1315	3.0305	102.19	103.10	102.68
3	2.5005	1.7831	1.0457	1.4963	3.5976	2.1098	3.0106	102.00	101.05	101.36
4	2.5015	1.7838	1.0461	1.4969	3.6028	2.1169	3.0377	102.25	101.69	103.13
5	2.5010	1.7835	1.0459	1.4966	3.5933	2.1231	3.0276	101.73	102.30	102.48
6	2.5021	1.7842	1.0464	1.4973	3.5765	2.1358	3.0313	100.74	103.46	102.68

注: 姜黄素、大黄素与厚朴酚的平均回收率分别为 101.66%、102.27%、102.40%; 姜黄素、大黄素与厚朴酚的 RSD 分别为 0.61%、0.87%、0.60%。

2.3.4 样品测定 取三批样品(批号为 20130520, 2030521, 20130522), 依法测定, 记录峰面积, 计算三种有效成分含量, 结果见表 3。

表 3 样品测定结果($n=3$)

批号	含量(mg/g)		
	姜黄素	大黄素	厚朴酚
20130520	0.7015	0.4059	0.5872
20130521	0.7125	0.4218	0.5889
20130522	0.7131	0.4182	0.5984

3 讨论

在金黄散洗剂处方筛选时, 曾分别选用黄原胶、卡波姆、羧甲基纤维素钠、硅皂土为助悬剂, 以沉降容积比和重新分散为评价指标对制得金黄散洗剂的稳定性进行比较, 对比结果显示以黄原胶为助悬剂制得的金黄散洗剂沉降缓慢, 不结块, 易于分散, 稳定性好, 易于涂布。

在黄柏定性鉴别中, 笔者曾对比了《中国药典》^[3] 过柱和超声这两种供试品处理方式, 结果差异不明显, 鉴于超声处理方式较简单, 所以采用了后者。采用《中国药典》方法以苯-异丙醇-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:3:6:3:1)为展开剂时, 分离效果不好, 后改用苯-异丙醇-乙酸乙酯-甲醇-水(12:3:6:4:0.6)做展开

剂, 取得较满意分离效果。

如意金黄散具有清热解毒、消肿止痛之功效, 历版《中华人民共和国药典》均予收载。现代药理研究表明^[4], 姜黄中的姜黄素、大黄中的大黄素、大黄素甲醚、厚朴中的厚朴酚等为如意金黄散中的主要活性成分。2010 年版《中国药典》仅规定了其中姜黄素的含量限度。为了全面的评价金黄散洗剂的质量, 笔者建立了同时测定金黄散洗剂中姜黄素、大黄素和厚朴酚含量的方法, 目前未见文献报道。对于要同时测定的姜黄素、大黄素和厚朴酚, 因其最大吸收波长相差较大^[5], 利用全波长扫描最后确定在 254 nm 处三者的响应值相对较好, 因此选择 254 nm 波长作为检测波长。

参考文献

- [1] 罗刚, 陈立庭, 周晶. 超微粉碎技术在中药研究中的应用[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 108-111.
- [2] 苏石旺, 卢戎, 李燕丽, 等. 不同助悬剂对炉甘石雷佛奴尔洗剂稳定性的研究[J]. 今日药学, 2012, 22(5): 279-281.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 720.
- [4] 杨敏, 蒋强富, 许伯慧, 等. HPLC 法测定如意金黄散中 5 种活性成分的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(16): 1511-1513.
- [5] 杨跃华, 胡春丽, 张洪霞, 等. RP-HPLC 法同时测定利胆排石片中 5 种有效成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(5): 373-376.

(收稿日期: 2014-05-27)