

# 痔疮外洗散质量标准研究

罗珍妹,陈惠玲,汪建君(厦门市药品检验所,福建 厦门 361012)

**摘要:**目的 建立痔疮外洗散的质量标准。方法 采用 TLC法对方中防风、甘草、花椒进行定性鉴别;并采用 HPLC测定黄连中盐酸小檗碱的含量。结果 薄层色谱均检出防风、甘草、花椒;盐酸小檗碱在 0.052 4~2.096 0  $\mu\text{g}$ 内呈良好的线性关系,  $r=0.999 7$ ;平均回收率为 99.4%,RSD=1.36%。结论 该方法简便易行,重复性好,可作为该制剂质量控制标准。

**关键词:**痔疮外洗散;盐酸小檗碱;高效液相色谱法;薄层色谱法

中图分类号:R927.11 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2009)02-0155-04

## Studies on the Quality Standard of the External Used Washing Powder for Hemorrhoid

LUO Zhenmei, CHEN Huiling, WANG Jianjun (Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012, China)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To establish a quality standard of the external used washing powder for Hemorrhoid **METHODS** The Radix Saposhnikoviae, Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae and Pericarpium Zanthoxyli were identified by TLC and the content of berberine hydrochloride in Rhizoma Coptidis was determined by HPLC. **RESULTS** Radix Saposhnikoviae, Radix Glycyrrhizae and Pericarpium Zanthoxyli were found in TLC; The linear range of berberine hydrochloride in Rhizoma Coptidis was 0.052 4 - 2.096 0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.999 7$ ), the average recovery was 99.4% with RSD of 1.36%. **CONCLUSION** The method is simple and reproducible. It can be used to control the quality of the external used washing powder for Hemorrhoid

**KEY WORDS:** external used washing powder for Hemorrhoid; berberine hydrochloride; HPLC; TLC

痔疮外洗散由芒硝、花椒、防风、黄连等七味药组成,具有祛毒止痒,消肿止痛的功效,用于痔疮漏疮,肛门痛痒,坚硬肿胀,溃流脓血。收载于卫生部药品标准中药成方制剂第二册,原质量标准无薄层色谱鉴别及含量测定项,为提高该制剂的有效性、稳定性及可控性,更有效地控制药品内在质量,对方中防风、甘草、花椒进行薄层色谱鉴别,并采用高效液相色谱法对黄连中盐酸小檗碱进行含量测定。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪,可变波长检测器(VWD),Agilent 色谱工作站,Lambda25 紫外分光光度仪。盐酸小檗碱对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号为 110713-200208(供含量测定用,纯度按 100%计);痔疮外洗散样品由某制药厂提供;乙腈为色谱纯;其余试剂为分析纯。防风、甘草、花椒对照药材均购于中国药品生物制品检定所。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 防风** 取本品 5 g,加石油醚(60~90)20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取防风对照药材 1 g 同法制成对照药材溶液。另同法制成防风阴性对照

溶液。照薄层色谱法<sup>[1-2]</sup>试验,吸取上述两种溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90)乙酸乙酯(8:2)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,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,防风阴性对照无相应斑点。见图 1。



图 1 防风 TLC 图谱

1, 2, 3 供试品; 4 防风对照药材; 5 防风阴性对照

**Fig 1** Chromatograms of Radix Saposhnikoviae by TLC

1, 2, 3-test samples; 4-sample of Radix Saposhnikoviae; 5-test sample without Radix Saposhnikoviae

作者简介:罗珍妹,女,副主任药师 Tel: (0592) 5619842 Email: luozhenmei@yahoo.cn

**2.1.2 甘草** 取本品 5 g,加乙醚 40 mL,加热回流 1 h,滤过,药渣加甲醇 30 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,用正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 3 次,蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。取甘草对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取甘草酸铵对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。另同法制成甘草阴性对照溶液。照薄层色谱法<sup>[1-2]</sup>试验,吸取上述三种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水 (15:1:1:2) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,在日光下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。甘草阴性对照无相应斑点。见图 2。

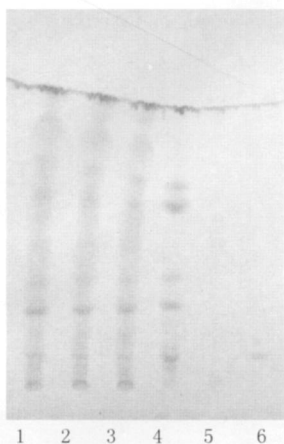


图 2 甘草 TLC 图谱

1, 2, 3 供试品; 4 甘草对照药材; 5 甘草阴性对照; 6 甘草酸铵对照品

Fig 2 Chromatograms of Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae by TLC

1, 2, 3-test samples; 4-sample of Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae; 5-test sample without Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae; 6-sample of ammonium glycyrrhizate

**2.1.3 花椒** 取本品 10 g,加乙醚 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液挥至 1 mL,作为供试品溶液。取花椒对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。另同法制成花椒阴性对照溶液。照薄层色谱法<sup>[1-2]</sup>试验,吸取上述两种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯 (4:1) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下 (365 nm) 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。花椒阴性对照无相应斑点。见图 3。

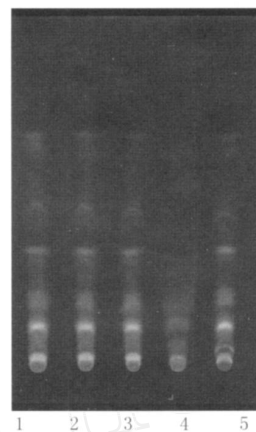


图 3 花椒 TLC 图谱

1, 2, 3 供试品; 4 花椒阴性对照; 5 花椒对照药材

Fig 3 Chromatograms of Pericarpium Zanthoxyli by TLC

1, 2, 3-test samples; 4-test sample without Pericarpium Zanthoxyli; 5-sample of Pericarpium Zanthoxyli

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件的选择** 色谱柱 Zorbax SB C<sub>18</sub> (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 乙腈-0.033 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (35:65); 检测波长: 265 nm; 流速: 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 进样量: 10  $\mu$ L; 理论板数按盐酸小檗碱峰计应不低于 3000。

**2.2.2 线性关系考察** 精密称取盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.0524 mg 的对照品溶液,分别精密吸取对照品溶液 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40  $\mu$ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积 (A) 为纵坐标,进样量 ( $\mu$ g) 为横坐标进行线性回归,得回归方程:  $Y = 3.81227X + 63.46$ ,  $r = 0.9997$ ,结果盐酸小檗碱进样量在 0.0524 ~ 2.0960  $\mu$ g 内与峰面积呈良好的线性关系。

**2.2.3 对照品溶液的制备** 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含盐酸小檗碱 50  $\mu$ g 的溶液,即得。

**2.2.4 供试品溶液的制备** 取本品 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入盐酸-甲醇 (1:100) 混合溶液 50 mL,密塞,称定重量,超声处理 (功率 300 W, 频率 28 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用盐酸-甲醇 (1:100) 的混合液补足减失的重量,摇匀,滤过。滤液用微孔滤膜 (0.45  $\mu$ m) 滤过,作为供试品溶液。

**2.2.5 阴性对照试验** 按处方中各药味的比例,称取不含黄连各味药,按制剂工艺制成阴性对照样品,再按“2.2.4”项下方法,制备缺黄连的阴性对照溶液,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,分别注入液相色谱仪,依法测定,结果阴性对

照溶液对样品中盐酸小檗碱峰无干扰,表明本法测

定盐酸小檗碱具有专属性。

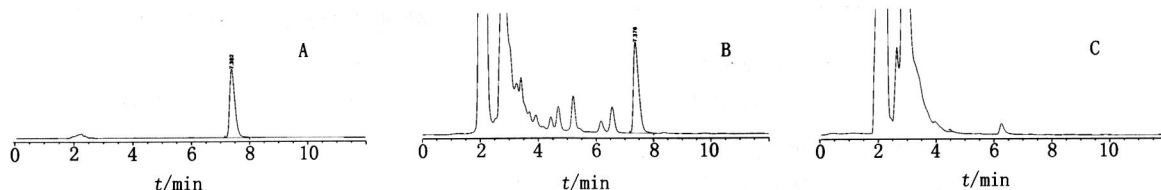


图 4 痔疮外洗散 HPLC 图谱

A 盐酸小檗碱对照品; B 痔疮外洗散供试品; C 缺黄连阴性对照

Fig 4 Chromatograms of external used washing power for hemorrhoid by HPLC

A-sample of berberine hydrochloride; B-test sample; C-test sample without Rhizoma Coptidis

**2.2.6 仪器精密度试验** 取同一盐酸小檗碱对照溶液(批号为 110713-200208)浓度为  $0.2524 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 重复进样 6 次, 每次进样  $10 \mu\text{L}$ , 按上述条件测定峰面积值,  $\text{RSD} = 0.26\%$  ( $n = 6$ ) 结果表明仪器精密度良好。

**2.2.7 重复性试验** 取同一批号样品 6 份(批号 5109998), 按“2.2.4 项下方法处理, 平行测定 6 次, 结果盐酸小檗碱平均含量为  $7.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $\text{RSD} = 1.53\%$ 。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液(5109998)

按上述色谱条件在 0, 6, 12, 18, 24, 48 h, 分别进样  $10 \mu\text{L}$  测定盐酸小檗碱峰面积, 结果  $\text{RSD} = 0.51\%$ , 表明供试品溶液在 48 h 内基本稳定。

**2.2.9 回收率试验** 采用加样回收法。精密称取已知盐酸小檗碱含量的同一批号样品 6 份(批号 5109998), 分别精密加入一定量的盐酸小檗碱对照品溶液, 依正文制备方法进行含量测定, 并计算回收率, 结果平均回收率为  $99.4\%$ ,  $\text{RSD} = 1.36\%$ , 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

取样量/g	已知量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.2529	1.935	1.978	3.906	99.6		
0.2536	1.940	1.978	3.956	101.9		
0.2565	1.962	1.978	3.928	99.4	99.4	1.36
0.2575	1.970	1.978	3.918	98.5		
0.2545	1.947	1.978	3.906	99.0		
0.2572	1.968	1.978	3.905	97.9		

**2.2.10 样品含量测定** 取样品 6 批依法制备供试品溶液, 吸取盐酸小檗碱对照品溶液与供试品各  $10 \mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算样品中盐酸小檗碱含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Tab 2 Results of sample determination

批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
5109997	6.85	0.69
5109998	7.65	0.51
5109999	6.20	0.16
20060501	6.41	1.40
20060502	6.58	0.28
20060503	6.38	1.05

### 3 讨论

#### 3.1 不同提取方法比较

本试验采用超声处理提取法提取盐酸小檗碱, 比中国药典超声处理后, 再上碱性氧化铝柱层析法及回流提取法简便, 快速、省时, 超声处理提取方法, 能使样品中的盐酸小檗碱提取完全。见表 3。

表 3 不同提取方法的比较

Tab 3 Comparisons of different abstraction

提取方法	实验结果/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1. 取样品 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)混合液 50 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 用盐酸-甲醇(1:100)混合液补足减失重量	7.56
2. 取样品 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)混合液 20 mL, 置 50℃ 水浴上加热 15 min, 取出, 放冷, 再超声处理 30 min, 放冷, 用盐酸-甲醇(1:100)混合液补足减失重量, 滤过, 精密称取滤液 2 mL 至中性氧化铝柱(100~200 目, 4 g, 内径 1 cm, 干法装柱)上, 用甲醇 35 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干。残渣加甲醇适量使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度	5.49
3. 取样品 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇(1:100)混合液 50 mL, 称定重量, 在水浴上回流 2 h, 冷却, 用盐酸-甲醇(1:100)混合液补足减失重量	7.64

**3.2 样品的取样量对盐酸小檗碱含量测定结果的影响**, 通过实验, 取样量在  $0.18 \sim 0.74 \text{ g}$ , 按上述条件测定盐酸小檗碱含量, 结果基本一致,  $\text{RSD} =$

1. 99% ( $n=4$ )。

### 3.3 检测波长的选择

取盐酸小檗碱对照品溶液,在 220~400 nm 范围内扫描,结果在 265 nm, 345 nm 处均有最大吸收,参照中国药典 2005 年版一部复方黄连片中盐酸小檗碱的含量测定,检测波长确定为 265 nm,曾用 265 nm, 345 nm 检测波长测定样品中盐酸小檗碱含量,结果含量基本一致。

### 3.4 不同色谱柱对盐酸小檗碱含量测定结果的影响

三种不同色谱柱含量测定结果基本一致, RSD = 1.65%, 结果见表 4。

### 3.5 方法学验证表明

采用薄层色谱法对方中防风、甘草、花椒进行定性鉴别,高效液相色谱法对黄连中盐酸小檗碱

进行含量测定,该方法操作简便,结果准确,重复性好,能够有效地控制药品质量。

表 4 不同色谱柱测定含量结果

Tab 4 Results of sample with different chromatographic columns

色谱柱类型及规格	含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
Zorbax SB C <sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	7.65	
Eclipse XDB-C <sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	7.86	1.68
Kromasil C <sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	7.89	

### REFERENCES

- [1] Ch P (2005) Vol (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 591.
- [2] MAO M S, LI Z G Modern Applied Control Technology of Chinese Medicine (现代实用中药质量控制技术) [M]. Vol 1. Beijing: People's Medical Publishing house, 2000: 475.

收稿日期: 2008-01-08

## HPLC同时测定大鼠血浆中克泻灵片的生物碱

汤浩<sup>1,2</sup>, 闵光涛<sup>3</sup>, 李玉民<sup>3</sup>, 蒋生祥<sup>1\*</sup> (1:中国科学院兰州化物所, 兰州 730000; 2:中国科学院研究生院, 北京 100039; 3:兰州大学第一医院普外科, 兰州 730000)

**摘要:**目的 建立克泻灵片中生物碱成分的大鼠血浆 HPLC同时测定方法。方法 灌胃克泻灵片,以乙酰苯胺为内标, RP-HPLC-UV法在 220 nm 波长处进行血药浓度测定。结果 槐定碱和苦参碱在大鼠血浆中定量准确,最低检测限分别为 350  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 100  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,回收率大于 98%。结论 该方法简便、准确、重复性好,可为克泻灵片的体内药动学研究提供方法学参考。

**关键词:**槐定碱;苦参碱;高效液相色谱法;大鼠血浆;克泻灵片

中图分类号: R917.101, R917.78

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2009)02-0158-04

### Simultaneous Determination of Alkaloids by HPLC in Rat Plasma after Kexieling Tablets Administration

TANG Hao<sup>1,2</sup>, MIN Guangtao<sup>3</sup>, LI Yumin<sup>3</sup>, JIANG Shengxiang<sup>1\*</sup> (1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; )

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for simultaneously determining the alkaloids of Kexieling tablets in rat plasma. **METHODS** The plasma samples were determined at 220 nm wavelength by reversed-phase HPLC and ultraviolet detection following oral administration of Kexieling tablets. **RESULTS** Sophoridine and matrine with 350 and 100  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  of limits of quantitation in plasma, respectively, can be accurately quantitated, and the recovery of both analytes was greater than 98%.

**CONCLUSION** The method is simple, accurate and can be referenced for pharmacokinetic study of Kexieling tablets.

**KEY WORDS:** sophoridine; matrine; HPLC; rat plasma; Kexieling tablets

作者简介: 汤浩, 女, 博士, 主管药师 Tel: (0931) 4968271  
Tel: (0931) 4968266 E-mail: sxjiang@126.com

E-mail: jijjwo@yahoo.com.cn \*通信作者: 蒋生祥, 男, 研究员