

祛斑膏的制备与质量控制

关世侠,曹丽萍,李海刚,李中桂,许淑芹,李杜军,周郁斌,袁中文

(广州中医药大学中药学院, 510006)

[摘要] 目的 制备祛斑膏,建立其质量控制方法。方法 采用薄层色谱法鉴别祛斑膏中丹参、白芷;采用高效液相色谱法对制剂中丹参酮 II A 进行含量测定, Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(75:25), 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 30 °C。结果 丹参、白芷的薄层鉴别斑点清晰, 专属性强;丹参酮 II A 在 0.021 ~ 0.105 μg 之间呈良好的线性关系($r=0.9999$, $n=5$), 平均回收率为 99.63%, RSD 为 0.37% ($n=9$)。结论 该文所建立的方法操作简单、专属性强、重复性好、结果准确可靠, 可作为控制祛斑膏质量的方法。

[关键词] 祛斑膏;丹参酮 II A;丹参;白芷;质量标准

[中图分类号] R286;TQ460.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)07-0941-03

皮肤色素沉着是一种常见的多发性皮肤疾病,主要由人体内分泌失调引起。皮肤色素沉着表现为黄褐斑、雀斑等。中药制剂以其不良反应小、不易产生耐药性的特点在治疗色素沉着方面具有较大优势。笔者针对皮肤色素沉着的病因及病理特点,根据中医传统理论组方,按照中药制剂原理制备的祛斑膏有活血、解郁、润肤、增白的功效,用于黄褐色斑及色素沉着斑的治疗。该方中丹参为君药,其主要作用为活血、祛瘀镇痛、消痈、养血等作用^[1]。现代医学研究显示:酪氨酸酶是黑色素产生过程中重要的催化剂,方中的丹参、白芷具有抗酪氨酸酶活性,可抑制黑色素的产生^[2]。为有效控制其质量,笔者在本实验采用薄层色谱(TLC)法对方中丹参、白芷,进行鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法对丹参酮 II A 进行了含量测定。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪(LC-solution 工作站),KQ5200DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),JJ200 型精密电子天平(美国双杰兄弟有限公司常熟双杰测试仪器厂),硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂)。

1.2 试药 丹参酮 II A 对照品(批号:110766-200416),白芷对照药材(批号:120945-200506),丹参对照药材(批号:927-200110),均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯,祛斑膏(批号:100308,100509,100617)及阴性样品均为本院自制。

2 处方与制备

2.1 处方 丹参、白芷、茯苓各 120 g,白芨、蒺藜各

110 g,白鲜皮 105 g,僵蚕、川芎各 85 g,白芍 80 g,白芷、香附各 70 g,蜂蜜 430 g,尼泊金 2.5 g,甘油 120 mL,纯化水。

2.2 制法 取处方比例药材粉碎,过筛孔内径(150.0 ± 6.6) μm(六号)筛,混匀,取细粉 545 g,备用。另取蜂蜜 430 g,加纯化水至 560 mL,煮沸,加入尼泊金 2.5 g,溶解,加甘油 120 mL,混匀,过滤,与上述细粉混匀,流通蒸汽灭菌 1 h,取出放冷至室温,制成祛斑膏 1 000 g,分装成每盒 10 g,即得。

3 质量控制

3.1 薄层鉴别

3.1.1 白芷 取祛斑膏 10 g,加乙醚 100 mL,浸泡 1 h,滤过时振摇,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯 10 mL 使溶解,作为供试品溶液;按处方配比,取除白芷外的其他药味,同法制成阴性样品溶液;另取白芷对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液;再取欧前胡素对照品,加乙酸乙酯制成每毫升含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30 ~ 60 °C)-乙醚(3:2)为展开剂,在 25 °C 以下展开,取出,晾干,置紫外灯(波长 365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置,显相同颜色的荧光,阴性样品无干扰,见图 1。

3.1.2 丹参 取祛斑膏 10 g,加石油醚 30 mL,振摇,放置 1 h,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液;另取丹参对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液;另取丹参酮 II A 对照品,加乙酸乙酯制成每毫升含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液;再按处方配比,取除丹参外的其他药味,同法制成阴性溶液。照薄层色谱法^[3]实验,吸取上述 4 种溶液各 10 μL,分别点于同一含羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60 ~ 90 °C)-乙酸乙酯(4:1)为展开

[收稿日期] 2010-09-28 [修回日期] 2010-11-01

[作者简介] 关世侠(1965-),男,辽宁沈阳人,副教授,博士,研究方向:药物传递系统。电话:020-39358312, E-mail: drguan@163.com。

剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点,阴性样品无干扰,见图1。

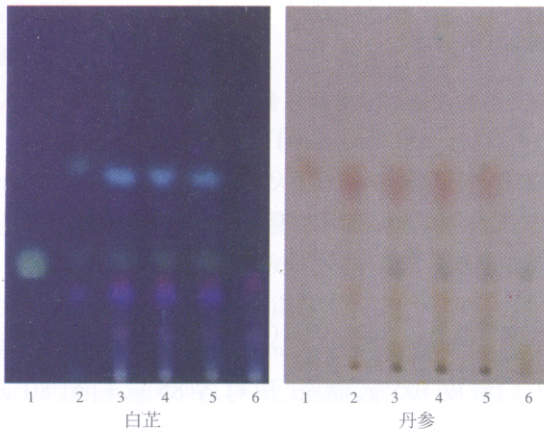


图1 白芷和丹参 TLC 色谱图

1. 对照品; 2. 对照药材; 3, 4, 5. 供试品; 6. 阴性对照品

3.2 含量测定

3.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (75 : 25), 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长: 270 nm, 柱温 30 °C, 进样量为 10 μL。

3.2.2 溶液的制备

3.2.2.1 对照品溶液 精密称取 105 °C 干燥至恒重的丹参酮 II A 对照品适量, 用甲醇制成每毫升含 10.5 μg 的溶液, 即得。

3.2.2.2 供试品溶液 取本品内容物约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶, 加甲醇至刻度, 密塞, 称定质量, 超声 30 min, 放冷至室温, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 取上清液, 用孔径 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

3.2.2.3 阴性对照溶液 取除丹参外的处方量药材, 按制备工艺制备缺丹参的阴性样品, 再按“3.2.2.2”项下方法, 制成缺丹参的阴性溶液。

3.2.3 标准曲线的制备 取“3.2.2.1”下的对照品溶液, 精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL 进样, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。以峰面积值为纵坐标, 进样量为横坐标, 得丹参酮 II A 回归方程 $Y = 53.026X - 3.587.1$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明丹参酮 II A 在 0.021 ~ 0.105 μg 范围内线性良好。

3.2.4 专属性实验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液, 按照“3.2.1”项下色谱条件进样。结果表明, 阴性样品无干扰, 见图2。

3.2.5 精密度实验 取“3.2.2.1”项下的对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定丹参酮 II A 峰面积 RSD 为

0.58%, 符合要求。

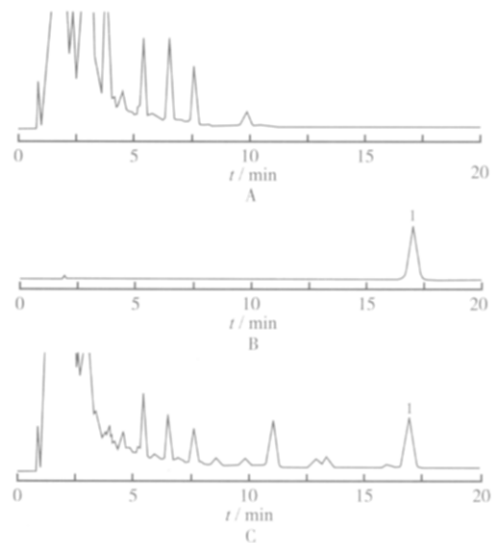


图2 阳性对照品、对照品、供试品的 HPLC 色谱图

A. 阳性对照品; B. 对照品; C. 供试品; 1. 丹参酮 II A

3.2.6 重复性实验 取同一批号样品 0.5 g, 精密称定, 共 6 份, 分别按“3.2.2.2”项供试品溶液制备操作, 按“3.2.1”项下色谱条件分析测定。结果样品中丹参酮 II A 平均含量为 255 μg · g⁻¹, RSD 为 0.35%。

3.2.7 稳定性实验 取同一批号样品 0.5 g, 精密称定, 按照“3.2.2.2”项下供试品溶液制备操作, 按“3.2.1”项下色谱条件分析, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测得峰面积的 RSD 为 1.02%。结果表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

3.2.8 加样回收率 精密称取已知含量的同一批祛斑膏 0.5 g, 分别加入一定量浓度为 0.25 mg · mL⁻¹ 的丹参酮 II A 对照品, 按供试品溶液制备项下操作, 平行操作 9 份, 按上述色谱条件测定含量, 计算回收率, 结果平均回收率 99.63%, RSD = 0.37% (n = 6)。见表 1。

表1 丹参酮 II A 加样回收实验结果 μg n = 9

样品含量	加样量	测得总量	回收率/%
127.216 6	150	277.009 4	99.86
126.987 2	150	277.012 4	100.02
127.014 5	150	276.281 6	99.51
127.324 1	125	252.118 7	99.84
127.104 4	125	251.179 2	99.26
127.212 0	125	251.824 0	99.69
127.351 0	100	226.298 6	98.95
127.425 9	100	226.890 1	99.46
126.893 5	100	226.995 7	100.10

3.2.9 样品含量测定 取 3 个批号的祛斑膏样品, 按照“3.2.2.2”项下供试品溶液制备操作, 按“3.2.1”项下色谱条件分析测定, 计算含量。结果批号为

100308, 100509, 100617 样品中丹参酮 II A 含量分别为 255, 257, 259 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 平均 257 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD = 0.65%。

4 讨论

丹参为该制剂的君药, 丹参的化学成分分脂溶性和水溶性。脂溶性成分有丹参酮 I、丹参酮 II A、丹参酮 II B、隐丹参酮、二氢丹参酮等; 水溶性成分有原儿茶醛及丹参素等。其中丹参酮 II A 为其主要活性成分之一, 所以本制剂通过 HPLC 对其主要的活性成分丹参酮 II A 进行含量测定, 为保证制剂的质量提供了依据。实验过程中比较甲醇回流提取法和超声提取法 2

种方法提取的丹参酮 II A 含量非常接近, 超声提取法操作简单, 故采用超声提取法提取。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.07.038

[参考文献]

- [1] 翟学佳, 徐锦凤. 高效液相色谱法同时测定丹参药材水溶性和脂溶性成分的含量[J]. 医药导报, 2009, 28(10): 1345-1348.
- [2] 赵永耀. 中医美容学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 175.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70-97.

安乃近致暴发性紫癜 1 例

白淑霞, 李文芳, 李智慧, 付宇, 王金堂

(湖北医药学院附属人民医院儿科, 湖北十堰 442000)

[关键词] 安乃近; 紫癜; 不良反应

[中图分类号] R971.1; R758.4

[文献标识码] B

[文章编号] 1004-0781(2011)07-0943-01

1 病例介绍

患儿, 男, 1 岁 8 个月, 因发热半天, 皮肤瘀斑 2 h 入住本院。患儿因发热, 家长在私人诊所购买安乃近片(武汉远大制药集团有限公司, 批号: 国药准字 H42021303, 批号不详), 给予患儿 1/3 片, po, 服药后 1 h 余皮肤出现大片紫斑, 哭闹, 无呕吐、腹泻, 无咳嗽, 无抽搐。入院体检: 体温 37.8 $^{\circ}\text{C}$, 呼吸 34 次 $\cdot \text{min}^{-1}$, 心率 124 次 $\cdot \text{min}^{-1}$, 血压 95/60 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)。神志清楚, 躯干、臀部及四肢见较多紫癜和瘀斑, 面部见散在紫癜。咽红, 双侧扁桃体 II 度肿大, 充血, 无脓栓。口唇及口腔黏膜未见出血点及紫癜。血常规: 白细胞 $18.5 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, N 0.729, L0.125,

红细胞 $3.96 \times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1}$, 血小板 $236 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$ 。肝肾功能、血清电解质、凝血酶原时间、高岭土部分促凝血激酶时间、大小便常规、大便潜血均无异常, 心肌酶: 肌酸磷酸激酶 143 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$, 肌酸激酶同工酶 15 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ 、乳酸脱氢酶 340 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ 。入院后给予克林霉素抗感染、地塞米松抗炎、丹参改善微循环, 口服双嘧达莫等处理, 后体温正常, 紫癜处皮肤渐转为暗紫色, 但瘀斑处皮肤颜色渐转为黑色并变硬、结痂, 考虑出血性坏死, 后转上级医院外科进行植皮, 术后恢复良好。

2 讨论

安乃近为氨基比林和亚硫酸钠的化合物, 属吡唑酮类解热镇痛药, 解热镇痛作用快而强, 临床应用十分广泛。目前认为, 暴发性紫癜与弥漫性血管内凝血有关, 该患儿无休克表现, 通过一般抗感染及抗炎治疗后除皮肤损害外未见其他系统受累的表现。患儿为双胞胎, 同胞妹妹当时也有发热, 也服用同等剂量安乃近无明显不良反应。鉴于安乃近上述不良反应, 临床医生不宜将安乃近作为一线解热镇痛药使用。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.07.039

[收稿日期] 2010-07-13

[作者简介] 白淑霞(1969-), 女, 河南南阳人, 主任医师, 学士, 从事儿科临床工作。电话: 0719-6981598, E-mail: baishuxia196969@sina.com。

[通讯作者] 王金堂, 男, 湖北十堰人, 主任医师, 从事儿科临床工作。电话: 0719-8629283, E-mail: bma2010@126.com。