

祛白酊质量标准的实验研究

盛国荣 谢 勇(南通 226006 江苏省南通市皮肤病防治所)

摘要 目的: 建立祛白酊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别其中的补骨脂素、异补骨脂素、梔子苷; 导数分光光度法测定其中醋酸氢化可的松的含量。结果: 薄层色谱鉴别方法有良好的重现性、专属性; 醋酸氢化可的松在 $11 \sim 19 \text{ ug} \cdot \text{m l}^{-1}$ 呈良好的线性关系($r = 0.9996$) 其含量测定平均回收率 100.9% , $\text{RSD} = 0.9\%$ ($n = 5$)。结论: 制定的质量标准可以保证祛白酊的质量。

关键词 祛白酊; 质量标准; 薄层色谱; 导数分光光度法

The experimental study of the quality criteria of the antileukoderma tincture

Sheng Guorong(Sheng GR), Xie Yong(Xie Y)(*Dermatology Station of Nantong, Jiangsu Province 226006*)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish the quality criteria for the antileukoderma tincture. **METHOD:** Using thin-layer chromatography to distinguish osteopractic lipid, iso-osteopractic lipid, capejasm ine glycoside in antileukoderma tincture and using derivative spectrophotometry to determine the content of the hydrocortisone acetate in it. **RESULTS:** The thin-layer chromatography possesses a good reproduction and speciality; $11 \sim 19 \text{ ug} \cdot \text{m l}^{-1}$ of the hydrocortisone acetate presents a good linear relationship ($r = 0.9996$), and the test average recovery of the content is to 100.9% ; $\text{RSD} = 0.9\%$ ($n = 5$).

CONCLUSION: The established quality criteria can control the quality of antileukoderma tincture.

KEY WORDS Antileukoderma tincture Quality criteria, Thin-layer chromatography, Guidedigital spectrophotometry

祛白酊是我所研制的一种中西药物相结合的复方外用制剂,其处方组成为补骨脂 150g, 栀子 75g, 乌梅 75g, 菟丝子 50g, 醋酸氢化可的松 10g, 二甲基亚砷 50ml, 氮酮 20ml, 甘油 100g, 70% 乙醇加至 1000ml。临床上主要用于治疗局限型、节段型、泛发型等白癜风,疗效确切。为了控制本品的内在质量,作者对其质量标准进行了实验性研究。

1 仪器、试剂和药品

1.1 仪器

UV-260 型分光光度计(日本岛津),微量定容毛细管(Drummond USA)。

1.2 试剂与药品

硅胶 G(青岛海洋化工厂);补骨脂素,异补骨脂素;栀子苷;醋酸氢化可的松对照品(中国药品生物制品检定所),补骨脂、栀子、乌梅、菟丝子(江苏如皋市中药饮片厂,经检验符合中国药典 1995 年版一部规定);醋酸氢化可的松(东北制药总厂);祛白酊(本所制剂室),空白对照品 I (不含补骨脂的祛白酊),空白对照品 II (不含栀子的祛白酊),其它试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 醋酸氢化可的松

取醋酸氢化可的松对照品适量,加乙醇溶解制成含醋酸氢化可的松为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 作为对照品溶液;取祛白酊适量,加乙醇稀释制成含醋酸氢化可的松为 $15 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 作为供试品溶液;另取中药的乙醇提取液,加处方量的二甲基亚砷、氮酮、甘油配制后,取适量加乙醇稀释使成与祛白酊稀释液相当浓度作为空白溶液,将上述制备的对照品溶液、供试品溶液和空白溶液在紫外分光光度计上扫描,得到对照品溶液在 241nm 波长处有最大吸收^[1],空白溶液在 241nm 波长附近有很小的吸收,经多次试验后,仅使供试品溶液在 241nm 波长处的最大吸收峰发生很小的漂移。因此,醋酸氢化可的松的定性可用在 $241 \pm 5\text{nm}$ 波长处测定有最大吸收来鉴别。

2.2 香豆精类

取本品 1ml,加新制的 7% 的盐酸羟胺甲醇溶液 2~3 滴,20% 氢氧化钾甲醇溶液 2 滴,水浴加热 1~2min,加 10% 盐酸使呈酸性,再加 1% 三氯化铁乙醇液 1~2 滴,溶液呈紫红色,空白对照品 I 则显淡棕黄色。

2.3 补骨脂素与异补骨脂素

取本品作供试品溶液,另取补骨脂素与异补骨脂素对照品,加乙醇制成每 ml 各含 5mg 的溶液,作对照品溶液。取供试品溶液、对照品溶液和空白对照品 I 溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用石油醚(60~90):乙酸乙酯(20:10)展开,取出晾干,在紫外灯下(365nm)下观察,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,而空白对照品 I 则不显荧光斑点。

2.4 栀子苷

取本品作供试品溶液,另取栀子苷对照品,加乙醇制成 $4 \text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液,作对照品溶液。取供试品溶液、对照品溶液和空白对照品 II 溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用乙酸乙酯:丙酮:甲酸:水(5:5:1:1)展开,取出晾干,喷硫酸甲醇溶液(5→10),于 110℃ 烘约 10min,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,而空白对照品 II 则不显荧光斑点。

3 醋酸氢化可的松的含量测定

3.1 测定方法和条件的选择

取在 105℃ 干燥至恒重的醋酸氢化可的松对照品适量,精密称定,以乙醇为溶媒,制成 $15 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的溶液(甲液);另将中药的乙醇提取液按照处方量加氮酮、二甲基亚砷、甘油等配制后,精密量取 5ml,用乙醇稀释至 100ml(乙液),因醋酸氢化可的松在 241nm 波长处有最大吸收,经实验,乙液在 241nm 波长处也有较小的吸收,因此将上述甲、乙两液在 230~250nm 波长范围内绘制一阶导数图谱^[2],得它们的一阶导数图谱甲液峰与谷的振幅值较大,而乙液峰与谷的振幅值为零。这样,就可以通过导数分光光度法来测定祛白酊中醋酸氢化可的松的含量。

3.2 线性关系考察

精密称取经 105℃ 干燥至恒重的醋酸氢化可的松对照品适量,用乙醇溶解后,分别配制每 ml 含醋酸氢化可的松为 11、13、15、17、19 μ g 的溶液,在 230~250nm 波长范围内绘制一阶导数光谱图($\Delta\lambda = 2\text{nm}$),测得各浓度峰与谷之间振幅值(ΔA 值)分别为 0.330、0.380、0.442、0.492 和 0.539,计算工作曲线得: $\Delta A = 0.00421 + 0.02612C$ ($r = 0.9996, n = 5$)。表明醋酸氢化可的松在浓度为 11~19 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内,它的一阶导数曲线的峰与谷的振幅值符合朗伯比尔定律。

3.3 回收率试验

精密称取经 105℃ 干燥至恒重的醋酸氢化可的松对照品适量,用中药的乙醇提取液配制浓度按线性范围由低到高的样品 5 份,每份都按处方比例加入二甲基亚砷、氮酮及甘油,按上述测定条件隔日测定 1 次,共 3d,分别用回归方程计算出各次测得的含量,然后求出每份样品 3 次测定值的平均测得量和回收率,结果见表 1。

3.4 含量测定方法的确定

3.4.1 对照品溶液的制备 精密称取经 105℃ 干燥至恒重的醋酸氢化可的松对照品适量,用乙醇溶解,配制成 $15 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 溶液,即得。

3.4.2 供试品溶液的制备 取祛白酊 5ml,置 200ml 容量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,再精密量取 5ml 稀释液置 100ml 容量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

表 1 醋酸氢化可的松回收率测定结果

样品号	投入量/ $\mu\text{g}\cdot\text{m l}^{-1}$	测定时间	测得量/ $\mu\text{g}\cdot\text{m l}^{-1}$	回收率/%	平均测定量/ $\mu\text{g}\cdot\text{m l}^{-1}$	平均回收率/%	总平均回收率/%	RSD/%
1	11.15	d1	11.43	102.5	11.36	101.9	100.9	0.9
		d2	11.24	100.8				
		d3	11.41	102.3				
2	13.22	d1	13.41	101.4	13.29	100.5		
		d2	13.30	100.6				
		d3	13.15	99.5				
3	14.90	d1	15.08	101.2	15.11	101.4		
		d2	15.25	102.3				
		d3	14.99	100.6				
4	17.21	d1	17.37	100.9	17.42	101.2		
		d2	17.37	100.9				
		d3	17.51	101.7				
5	18.89	d1	18.77	99.4	18.83	99.7		
		d2	18.83	99.7				
		d3	18.90	100.1				

3.4.3 测定法: 取对照品溶液与供试品溶液, 分别在 230~250nm 波长区间绘制一阶导数($\Delta\lambda=2\text{nm}$)光谱图, 量取波峰与波谷间的振幅值, 计算即得。

3.5 样品测定

用上述拟定的方法测定本所制备的祛白酊 5 批, 批号分别为 990921、991015、991027、991110、991203, 含量分别为标示量的 100.3%、101.0%、99.8%、101.4%、100.8%。

4 讨论与小结

4.1 君药补骨脂中含多种香豆精类成分, 包括补骨脂素(呋喃骈香豆精), 异补骨脂素(异呋喃骈香豆精), 臣药栀子中含栀子苷, 它们皆为治疗白癜风的有効成分。本品中含中药成分 4 种, 薄层色谱鉴别时各成分间相互干扰较大, 经反复实验, 补骨脂素和异补骨脂素以石油醚: 乙酸乙酯(20: 10)为展开剂, 栀子苷以乙酸乙酯: 丙酮: 甲酸: 水(5: 5: 1: 1)

为展开剂, 斑点清晰, 分离效果良好。
4.2 醋酸氢化可的松在 241nm 波长处有最大吸收, 而中药提取液在 241nm 处也有较小吸收, 因此采用一般分光光度法测定其含量专属性差, 结果不理想。通过实验, 采用导数分光光度法测定祛白酊中醋酸氢化可的松的含量, 排除了处方中其它成分的干扰, 不需对样品进行特殊处理, 能较好地反映本品的质量, 且方法简便易行, 重现性好, 结果满意。

参考文献

1 中国药典(二部)·1995 年版: 1091.
2 相秉仁编著·计算药学·第 1 版·北京: 中国医药科技出版社, 1990: 131.