

pH 对洁身洗液中苦参碱含量测定的影响研究^{*}

冯敏¹ 李晓刚² 张珍² 李艳鹏²

(1. 陕西步长制药有限公司, 陕西 西安 712000; 2. 陕西步长高新制药有限公司, 陕西 西安 710119)

摘要:目的 考察洁身洗液中苦参碱含量测定的影响因素。方法 调节待测溶液 pH 值, 采用高效液相色谱法(HPLC)法对苦参碱含量进行检测。结果 氨水调节 pH 为影响苦参碱含量测定的主要因素, 尤其是 pH 在 9.0~9.7 范围内效果较佳。因此, 及时修订标准操作规程(SOP), 以减少相同条件下批次之间的含量测定差异性, 降低了关键影响因素对含量测定的影响, 避免经常出现的超趋势现象。结论 碱性 pH 为 9.0~9.7 时, 洁身洗液中苦参碱的检测含量较为稳定, 相邻批次之间含量差异减小, 且同一批次进行稳定性考察时, 也避免了超趋势现象的发生, 可达到标准中的含量限度。

关键词:洁身洗液; 苦参碱; 含量; pH; 影响因素

中图分类号:R284 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1340(2022)02-0072-05

DOI:10.13424/j.cnki.jstcm.2022.02.016

洁身洗液^[1]是妇科外用洗剂, 由苦参、蛇床子、关黄柏、苍术、土荆皮、花椒以及野菊花七味药材制备而成的中药制剂。其中, 苦参具有清热解毒, 燥湿杀虫的功效, 适用于湿热蕴结所致湿疹, 阴痒带下^[2-15]。苦参碱作为其中的主要有效成分, 主要采用高效液相色谱法(HPLC)对苦参碱含量进行测定^[17-26]。根据洁身洗液质量标准 and 操作规程进行检验, 发现其苦参碱含量在相邻批次及同批次稳定性中含量测定结果差异较大, 且不同人员操作差异较大, 趋势难以汇总。针对此问题, 本文通过研究苦参碱含量测定的影响因素, 进一步改进检测操作规程, 提高含量测定的准确性, 为该药物的质量控制提供了新的思路及方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器及设备 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司, HH-4 型)、高效液相色谱仪(岛津, LC-2010AHT), 酸度计(美国赛多利斯科学仪器有限公司, PB-21)。

1.2 试剂 盐酸、三氯甲烷、浓氨试液、磷酸、无水硫酸钠均购自国药集团化学试剂有限公司, 为分析纯; 无水乙醇、乙腈为色谱纯(Thermo-Fisher 公司); 精密试纸(pH 8.2~10.0, pH 0.5~5.0, 杭

州试三科技有限公司), B-广泛试纸(pH 1~14, 上海三爱思试剂有限公司)。

1.3 试药 含量测定样品(洁身洗液, 批号 180401, 180402, 180403, 180404, 180405, 180406, 180601, 180602, 180603, 180701, 180702, 180703)产自陕西步长高新制药有限公司; 苦参碱对照品(批号: 110805-200508, 购自中国食品药品检定研究院)。

2 测定方法^[17]

2.1 供试品溶液的制备 精密量取本品 10 mL, 置分液漏斗中, 用盐酸调节 pH 值至 1~2, 用三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 弃去三氯甲烷液, 水液用浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用三氯甲烷振摇提取 4 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷液, 加适量无水硫酸钠脱水, 滤过, 无水硫酸钠用三氯甲烷 20 mL 分数次洗涤, 洗液并入滤液中, 蒸干, 残渣加无水乙醇溶解, 转移至 50 mL 量瓶中, 并用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2 对照品溶液的制备 准确称取苦参碱对照品, 加乙腈-无水乙醇(80:20)制成每 1 mL 含苦参碱 0.15 mg 的溶液, 即得。

^{*} 基金项目: 陕西省重点科技创新团队计划项目(2015KCT-19)

2.3 HPLC 测定含量 利用 HPLC 法对苦参碱进行检测,色谱条件为:以氨基键合硅胶为填充剂;以乙腈-无水乙醇-3.5%磷酸溶液(78:10:12)为流动相;检测波长 220 nm。理论板数按苦参碱峰计算应不低于 3000。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪,进行测定。本品每 1 mL 含苦参以苦参碱计,不得少于 0.20 mg。

3 含量测定的影响因素

由于前期检验发现其苦参碱含量在相邻批次及同批次稳定性中含量测定结果差异较大,且不同人员操作差异较大,趋势难以汇总。故参考《中国药典》2015 版^[17],查找资料,对含量测定方法中的主要影响因素“酸碱度”进行了逐步考察。分别针对盐酸调 pH 值、浓氨试液调 pH 值两个步骤,连续考察三批样品 180401,180402,180403。

3.1 用盐酸调 pH 值 分别将供试品溶液调酸性

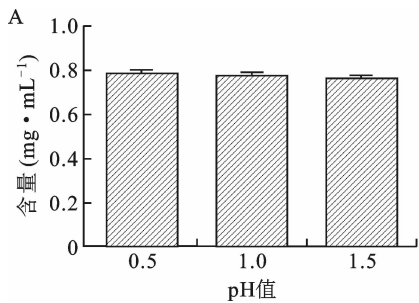


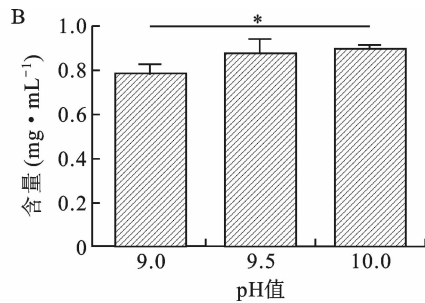
图1 供试品分别在盐酸调 pH(A)和浓氨试液调 pH(B)时的含量测定 (*表示 $P < 0.05$, pH 10.0 与 pH 9.0 相比)

3.3 精密试纸调节 对当月生产的三批洁身洗液 180401、180402、180403 用精密试纸对调碱这一步骤进行进一步验证。前期分别购买了三爱思、新星两个不同厂家的精密试纸,三批成品分别做平行样。用精密试纸将酸度调为 1.0,后续步骤中分别将两份平行样一份调节碱性至 9.0,一份调节碱性至 9.7,实验过程中观察两个不同厂家精密试纸颜色反应,发现新星厂家试纸颜色较好辨认。供试品制备完毕后,测定。

如图 2 所示,结果表明:碱性为 9.7 时测定的样品含量高于碱性为 9.0 时的样品,经 SPSS 20.0 统计学分析显示 $P = 0.001 < 0.01$,二者之间具有较强的显著性差异。故再次确定调碱步骤为主要影响因素。通过质量风险评估,若氨水调节 pH 9.0 含量低,可及时发现产品质量问题,故只降低

至 pH 为 0.5、1.0、1.5(分别做平行样),用 PB-21 酸度计精密调节,保持后面碱性 pH 9.5 相同,置高效液相色谱仪进样检测,最终实验结果(见图 1A)表明三个不同酸性的样品实验结果差异不大,经 SPSS 20.0 分析显示三组数据之间无显著性差异,因此确定调酸这一步骤为非主要影响因素。

3.2 用浓氨试液调 pH 值 分别将供试品溶液调碱性至 pH 为 9.0、9.5、10.0(分别做 3 个重复),用 PB-21 酸度计精密调节,保持前面酸性 pH 1.0 相同,用同一高效液相色谱仪在相同条件下检测。最终实验结果(见图 1B)表明:一定程度上,苦参碱含量随着溶液碱性 pH 的增大而增大,与 pH 9.0 相比,pH 9.5 时含量结果经 SPSS 20.0 统计学分析显示 P 值为 0.091,二者之间无显著性差异;pH 10.0 时含量结果经统计学分析显示 $P = 0.018 < 0.05$ 有显著性差异。因此确定调碱这一步骤为主要影响因素。



pH 调节的最高值。随即修订 SOP,明确规定用精密试纸将碱性 pH 调至 9.0 ~ 9.7。

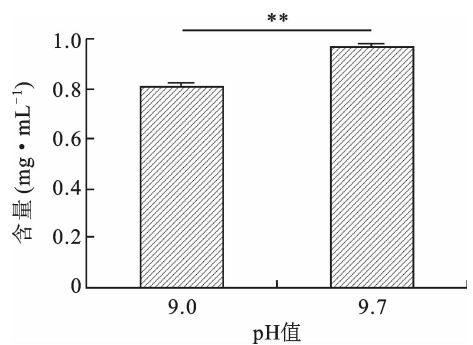


图2 精密试纸调节 pH 为 9.0 和 9.7 时苦参碱的含量测定 (**表示 $P < 0.01$)

3.4 优化前后含量检测数据对比 为进一步确定该操作对洁身洗液含量测定的影响,我们选取了接下来生产的数批洁身洗液用细化后的操作规程

进行进一步验证,批号分别为 180404,180405,180406,180601,180602,180603,180701,180702,180703。优化前后的含量结果对比,见表 1。如表 1 所示,改进前后测定的样品中苦参碱含量均在标准范围,改进前 RSD 为 15.15%,改进后 RSD

为 8.33%,可以看出相邻批次之间的误差明显降低,该结果表明:细调后的操作规程可以有效地提高批间测量值的重现性,并减少人员操作带来的个体化差异,使测量结果更加地准确。

表 1 洁身洗液含量测定方法优化前后比较

样品	改进前			改进后		
	含量(mg·mL ⁻¹)	平均值(mg·mL ⁻¹)	RSD(%)	含量(mg·mL ⁻¹)	平均值(mg·mL ⁻¹)	RSD(%)
180404	0.58	0.68	15.15	0.79	0.80	8.33
180405	0.55			0.74		
180406	0.64			0.74		
180601	0.65			0.75		
180602	0.64			0.73		
180603	0.66			0.82		
180701	0.77			0.85		
180702	0.70			0.83		
180703	0.89			0.93		

3.5 优化后稳定性测试 取相同条件下放置的三批洁身洗液,批号分别为 180701,180702,180703。按照优化后的方法分别制备放置 7 d,14 d,21 d 的洁身洗液供试品溶液和对照品溶液,利用 HPLC 进样检测含量。三批洁身洗液稳定性趋势如图 3,可以看出,细化后的操作规程分别测定的三批样品,同一批样品之间的含量结果较为接近,稳定性数据较为平稳,很好的达到了预期的执行效果。

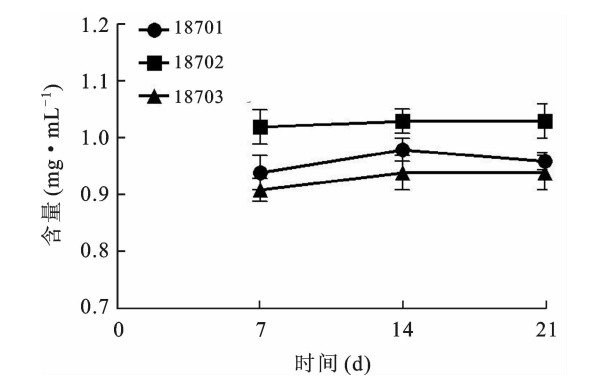


图 3 三批洁身洗液分别在 7、14、21 d 的稳定性测试

4 结论

本文改进了现有的洁身洗液中苦参碱含量测定的标准操作规程,通过改变氨水调节 pH 值范围的这一步骤,进一步将原来的 pH 9.0~10.0 缩小至 pH 9.0~9.7 之间。通过 HPLC 检测分析苦参

碱含量,发现相邻批次之间的含量差异变小,RSD 变小,样品测定的精确度更高。同时,分别检测放置不同时间的样品含量的稳定性,发现检测结果数据趋于平稳。因此,该方法的改进有利于提高洁身洗液的质量控制标准,提高样品检测的精密度,降低市场风险性,同时也可以对其他含有苦参碱中药制剂的质量控制提供参考依据。

参考文献

[1] 魏红妮,郭增军,张青.洁身洗液的含量测定方法及工艺优化研究[J].西北药学杂志,2019,34(1):16-19.
[2] 房蕴歌,朱厚达,刘晓谦,等.苦参药材和饮片质量标准修订研究[J].中国中药杂志,2020,45(8):1756-1763.
[3] 陈静.苦参饮片规格及其质量评价标准研究[D].广州:广东药学院,2013.
[4] 徐宏峰,黄超,陈科力,等.高效液相色谱法测定青柏洁身洗液苦参碱含量[J].医药导报,2009,28(11):1501-1502.
[5] 高红宁,殷奕.苦参药材中氧化苦参碱和苦参总黄酮含量比较[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):66-69.
[6] 田娟,王智民,王维皓.HPLC 测定苦参药材中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(2):23-24.
[7] 黄华树,叶能胜,郝晓丽,等.HPLC 检测苦参中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J].现代仪器,2009,15(5):43-45.

- [8] 侯杰荣,柯发敏,侯思奎. HPLC 同时测定苦参中 3 种生物碱的含量[J]. 中药材,2014,37(2):273-275.
- [9] 冯敏,李秀妮,谢守兰,等. RP-HPLC 法测定洁身洗液中苦参碱[J]. 国外医药(植物药分册),2006,21(6):253-254.
- [10] 蔡晓敏. 苦参洗液的薄层色谱鉴别[J]. 海峡药学,2017,29(2):75-77.
- [11] 郭钰芹,刘记会. 苦参制剂的临床应用[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(6):45-46.
- [12] 张钟媛. 苦参的化学成分和药理作用研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2015,36(6):104-106.
- [13] 张淑运,王辉,何希荣,等. 苦参药材中生物碱的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(6):2-4.
- [14] 朱丽君,刘斌,石任兵. HPLC 法测定苦参生物碱部位中 4 种成分含量[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(11):780-783.
- [15] 王秀兰,洪宗超,吴松涛,等. 高效液相色谱法测定复方苦参汤中苦参碱、氧化苦参碱的含量[J]. 中南药学,2017,15(10):1426-1429.
- [16] 邵蓉,张仲源,管营杰. 苦参在妇科疾病外治中的药理作用[J]. 中国医药指南,2015,13(28):39-43.
- [17] 国家药典委员会.《中华人民共和国药典》[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [18] 梁亚丽,郭文敏,王莉芳,等. HPLC 法测定妇宁阴道泡腾片中苦参碱和氧化苦参碱的总量[J]. 中国药师,2010,13(10):1411-1413.
- [19] 吴浩善,冯宏玲,韩丽,等. HPLC 法测定妇炎平阴道泡腾片中苦参碱的含量[J]. 中国民族民间医药,2017,26(17):12-14.
- [20] 骆莉莉,张亚洲,董立莎. HPLC 法测定抗炎泡腾栓中苦参碱和氧化苦参碱的方法学研究[J]. 贵阳中医学院学报,2009,31(3):16-18.
- [21] 张静,李玥瑛,张树杰,等. HPLC 法测定康妇消炎胶囊中苦参碱的含量[J]. 中医药信息,2007,24(1):59-60.
- [22] 郝明虹,夏才付,王栋. HPLC 法测定妇炎清泡腾片中苦参碱的含量[J]. 药物分析杂志,2007,27(12):1996-1997.
- [23] 任永红,冯绍华. HPLC 法测定康妇灵片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 安徽医药,2009,13(2):154-155.
- [24] 毛丹,陈钊,王柯,等. HPLC 法测定苦参软膏中苦参碱、槐定碱和氧化苦参碱[J]. 中成药,2011,33(9):1531-1534.
- [25] 徐云. HPLC 法测定湿疹洗剂中苦参碱的含量[J]. 云南中医中药杂志,2019,40(3):68-70.
- [26] 朱玲娟,苟小军. HPLC 法测定苦参洗剂中苦参碱的含量[J]. 云南中医中药杂志,2017,38(2):85-87.

(收稿日期:2020-04-27 编辑:宋蓓)