高效液相色谱法测定杀菌止痒洗剂的稳定性*

王鹏娇[1]，舒 阳[1]，张 敏[1]，姜 楠[2]，高秀丽[1]**
（1. 贵阳医学院 药学院，贵州 贵阳 550004；2. 贵州长生药业有限责任公司，贵州 贵阳 550200）

［摘 要］**目的**：建立杀菌止痒洗剂中苦参碱含量的高效液相色谱（HPLC）测定方法，并用此方法对杀菌止痒洗剂进行稳定性考察。**方法**：采用 Diamonsil-C_{18}色谱柱，流动相为乙腈-水-三乙胺（97∶3∶0.2，pH3.5）、检测波长 207 nm、流速 1.0 mL/min、柱温为 25 ℃，稳定性研究采用加速试验和长期试验。**结果**：苦参碱在 0.081 88 ~ 32.752 0 μg 时与峰面积呈良好的线性关系（r = 0.999 9），平均加样回收率为 99.2%，RSD = 0.69%；杀菌止痒洗剂经过 6 个月加速实验和 12 个月长期实验，苦参碱含量无明显变化。**结论**：所建立的 HPLC 方法能很好地分离、检测杀菌止痒洗剂中苦参碱，并能评价杀菌止痒洗剂的稳定性。

［关键词］苦参碱；色谱法，高压液相；杀菌止痒洗剂；药物稳定性
［中图分类号］R282.61；R282.71；R284.2 ［文献标识码］A ［文章编号］1000-2707（2013）05-0485-04

Determination of Stability of Shajunzhiyang Lotion by HPLC

WANG Pengjiao[1], SHU Yang[1], ZHANG Min[1], JIANG Nan[2], GAO Xiuli[1]
（*1. School of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Guizhou Changsheng Drug Industry Limited Liability Company, Guiyang550200, Guizhou China*）

［**Abstract**］**Objective**: To establish HPLC method for determination of matrine in Shajunzhiyang lotion, and determine the stability of the sample. **Methods**: The HPLC method was carried out on Diamonsil-C_{18} column using acetonitrile-water-triethylamine (adjust the pH to 3.5 by phosphoric acid) as mobile phase, and the detection wavelength was 207 nm, the flow rate was 1.0 mL/min and the temperature of column was 25 ℃. The stability of Shajunzhiyang lotion was studied with accelerated test and long-term test. **Results**: In the results by HPLC method the calibration curve for matrine was linear in the range of 0.081 88 ~32.752 0 μg (r = 0.999 9). The average recovery was 99.2%, RSD was 0.69% (n = 6). No significant change of matrine content was found in Shajunzhiyang lotion after 6-month accelerated test and 12-month long-term test. **Conclusion**: This HPLC method is convenient, precise and reliable for determination of matrine in Shajunzhiyang lotion, and the stability of the lotion is good.

［**Key words**］sophocarpidine; chromatography, high pressure liquid; Shajunzhiyang lotion; drug stability

杀菌止痒洗剂是由苦参、黄柏、蛇床子、土茯苓、苍术、冰片等 6 味药材组成，具有清热解毒、杀虫止痒的功效，临床上用于改善滴虫性、霉菌性、非特异性阴道炎及外阴瘙痒症所致的带下量多、阴痒[1]。该制剂在研发之初，受到当时科研水平的限制，质量标准和生产工艺较粗糙。为了更好地控制产品质量，提高制剂的稳定性，相关制药企业对杀菌止痒洗剂进行了工艺及设备和质量标准提升与改造[2-4]。本研究以苦参碱为测定指标，采用 HPLC 法对工艺改进后的杀菌止痒洗剂苦参碱的含量进行测定，并参照《中国药典》2010 年版二部进行了杀菌止痒洗剂稳定性试验研究，以确保制剂的安全、有效[5-7]。

*［基金项目］贵阳市科技局计划项目（201120718 号），贵阳市科技局计划项目（201120429 号）。
**通信作者 E-mail：xiuligao@ hotmail. com

1　仪器与试药

Agilent1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司),SG8200H 型超声清洗器 (上海冠特超声仪器有限公司),TB-215D 型分析天平 (德国赛多利斯股份公司),HH-42A 型恒温水浴锅(金坛市开元实验仪器厂),PHS-25B 型酸度计(上海大普仪器有限公司)。苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0805 - 200508),乙腈为色谱纯,三乙胺,磷酸为分析纯,水为纯净水。杀菌止痒洗剂(批号:110801、110802、110803)为贵州长生药业有限责任公司提供。

2　方法和结果

2.1　建立含量测定方法

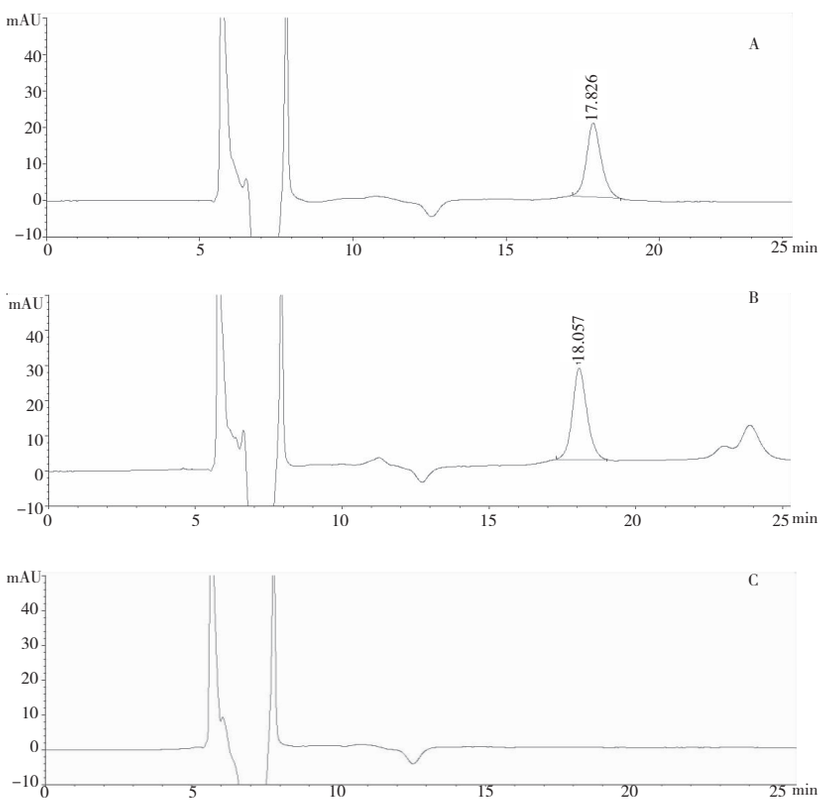
2.1.1　色谱条件　Diamonsil-C_{18} (200 mm × 4.6 mm,5 μm)色谱柱,流动相为乙腈-水-三乙胺(97∶3∶0.2,用磷酸调 pH3.5),检测波长207 nm,流速 1.0 mL/min,常温,进样量 10 μL,理论塔板数按苦参碱计不低于 3 000。

2.1.2　对照品溶液制备　称取苦参碱对照品 10 mg,加甲醇,制成每 1 mL 中含苦参碱对照品 80.36 μg 的溶液。

2.1.3　供试品溶液制备　取装量差异项下的本品,摇匀,吸取 5 mL 置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀后移至分液漏斗中,加入氨水 2 mL,摇匀后用三氯甲烷提取 3 次,每次 25 mL,合并三氯甲烷液,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 25 mL,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2.1.4　阴性对照溶液制备　按处方比例取除苦参碱以外的各味药材,按杀菌止痒洗剂的制备工艺制成阴性样品,按 2.1.3 项下供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.1.5　系统适用性试验　精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,结果见图 1。



A:对照品;B:供试品;C:阴性对照品

图 1　杀菌止痒洗剂苦参碱含量测定

Fig. 1　HPLC chromatogram of matrine in Shajunzhiyang lotions

2.1.6　线性关系考察　分别精密吸取苦参碱对照品溶液(质量浓度为 0.081 88 g/L)1、2、10、20、40 μL注入高效液相色谱仪,按 2.1.1 项下色谱条件进行测定。以峰面积为横坐标,对照品的进样量

(μg)为纵坐标,进行线性回归计算,得回归方程 $Y=204.93X+149.13$($R=0.999\ 9$),苦参碱线性范围为 0.081 88 ~ 32.752 μg。

2.1.7 精密度试验　精密吸取苦参碱对照品溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,重复进样 6 次,测定苦参碱的峰面积,6 次结果的 RSD = 0.42%。

2.1.8 稳定性试验　分别于 0,1,2,4,8,12 h,精密吸取同一供试品溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪测定,RSD = 0.29%,供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.1.9 重复性试验　精密称取供试品(批号 110801)6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,测得苦参碱平均含量为 0.427 g/L,RSD = 1.09%($n=6$)。

2.1.10 加样回收率试验　精密称取已知含量的杀菌止痒洗剂样品(批号 110801)2 mL 各 6 份,各精密加入苦参碱的对照品储备液 2 ml,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,测得平均回收率为 99.2%,RSD = 0.69%($n=6$)。结果见表 1。

2.2 杀菌止痒洗剂稳定性

2.2.1 加速试验　分别取 3 批样品(批号:110801、110802、110803)置恒温(40 ± 2)℃、相对湿度(75 ± 5)%的试验箱内放置 6 个月,分别于 1、2、3、6 月末取样测定,并与 0 月时结果比较,杀菌止痒洗剂各项考察指标均未发生明显的变化,苦参碱的含量无明显变化,符合质量标准的要求(本品含苦参碱不得少于 0.45 g/L),结果见表 2 和表 3。

表 1　苦参碱回收率试验结果

Tab. 1　The average recovery of matrine

样品中的量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.854 0	0.854 4	1.695 6	98.5	99.2	0.69
0.854 0	0.854 4	1.705 8	99.7		
0.854 0	0.854 4	1.710 1	100.2		
0.854 0	0.854 4	1.696 4	98.6		
0.854 0	0.854 4	1.702 4	99.3		
0.854 0	0.854 4	1.697 3	98.7		

2.2.2 长期试验　分别取 3 批样品(批号:110801、110802、110803)置恒温(25 ± 2)℃、相对湿度(60 ± 10)%的试验箱内放置 12 个月,分别于 3、6、9、12 月取样测定,并与 0 月时结果比较。由表 4 可以看出样品在放置的条件和时间内,杀菌止痒洗剂的各项指标均未发生明显变化,符合质量要求,说明杀菌止痒洗剂在 12 个月内质量稳定。

表 2　3 批杀菌止痒洗剂加速稳定性试验

Tab. 2　The inspection results of accelerated stability test in three batchs of Shajunzhiyang lotion

检查项目	检测时间(月)				
	0 月	1 月	2 月	3 月	6 月
性状	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
鉴别	均符合规定	均符合规定	均符合规定	均符合规定	均符合规定
砷盐	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
细菌总数	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
霉菌总数	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
金黄色葡萄球菌	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
铜绿假单胞菌	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
活螨	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

表 3　3 批杀菌止痒洗剂相对密度、pH 值和苦参碱含量

Tab. 3　Relative densities, pH values, and matrine contents in three batchs of Shajunzhiyang lotion

检测时间(月)	相对密度			pH 值			苦参碱含量(g/L)		
	110801	110802	110803	110801	110802	110803	110801	110802	110803
0	0.975 6	0.994 5	0.987 5	5.58	5.57	5.58	0.483 2	0.480 1	0.484 2
1	0.978 2	0.987 6	0.981 9	5.61	5.58	5.54	0.480 6	0.482 1	0.483 9
2	0.981 3	0.990 1	0.987 4	5.57	5.49	5.59	0.482 9	0.480 7	0.484 6
3	0.972 4	0.994 5	0.972 2	5.43	5.52	5.61	0.481 7	0.481 9	0.483 7
6	0.973 7	0.994 7	0.984 7	5.51	5.54	5.49	0.483 1	0.480 4	0.483 3

表 4　3 批杀菌止痒洗剂长期稳定性

Tab. 4　Results of long-term stability test of three batchs of Shajunzhiyang lotions

样品批号	检测时间(月)	性状	鉴别	微生物限度	相对密度	pH 值	苦参碱含量(g/L)
110801	0	符合规定	均符合规定	符合规定	0.975 6	5.58	0.483 2
	3	符合规定	均符合规定	符合规定	0.969 1	5.57	0.483 7
	6	符合规定	均符合规定	符合规定	0.970 4	5.54	0.482 1
	9	符合规定	均符合规定	符合规定	0.973 8	5.59	0.482 9
	12	符合规定	均符合规定	符合规定	0.972 9	5.51	0.482 2
110802	0	符合规定	均符合规定	符合规定	0.994 5	5.57	0.480 1
	3	符合规定	均符合规定	符合规定	0.997 1	5.54	0.480 8
	6	符合规定	均符合规定	符合规定	0.995 7	5.51	0.479 4
	9	符合规定	均符合规定	符合规定	0.998 2	5.52	0.480 5
	12	符合规定	均符合规定	符合规定	0.996 1	5.53	0.479 2
110803	0	符合规定	均符合规定	符合规定	0.987 5	5.58	0.484 2
	3	符合规定	均符合规定	符合规定	0.986 1	5.51	0.480 9
	6	符合规定	均符合规定	符合规定	0.985 5	5.53	0.481 9
	9	符合规定	均符合规定	符合规定	0.984 7	5.57	0.483 7
	12	符合规定	均符合规定	符合规定	0.981 8	5.54	0.483 1

3　讨论

试验结果采用 HPLC 法测定杀菌止痒洗剂中苦参碱的含量方法简便、准确、重现性好，准确度高，可用于质量控制。在 HPLC 含量测定方法建立时，进行了不同色谱柱和流动相以及供试品溶液制备方法的筛选，由试验结果选择了 Diamonsil-C_{18} (200 mm × 4.6 mm，5 μm) 色谱柱，流动相确定为乙腈-水系统，供试品溶液制备方法确定为三氯甲烷萃取。对杀菌止痒洗剂经过加速试验和长期稳定性试验，在连续 6 个月和 12 个月稳定性考察中，其性状、鉴别、相对密度、pH 值、微生物限度和苦参碱的含量均未发生明显变化，符合杀菌止痒洗剂质量标准。稳定性试验结果说明，新改进的杀菌止痒洗剂的生产工艺合理可行。

4　参考文献

[1] 余家奇，杨忠兰. 杀菌止痒洗剂的质量标准研究[J]. 中成药，2005(8)：900 - 903.

[2] 喻征兵. 妇炎消洗剂的稳定性考察[J]. 齐鲁药事，2010(11)：660 - 661.

[3] 张志华，冯燕，毕秀丽. 持续稳定性考察工作对制剂质量管理的重要性[J]. 齐鲁药事，2012(7)：429 - 431.

[4] 吴勇梅. 医院中药制剂质量稳定性监测[J]. 中国现代药物应用，2011(12)：73 - 74.

[5] 陈磊，刘怡，梁生旺. 苦参化学成分研究[J]. 广东药学院学报，2011(5)：471 - 473.

[6] 卢荣枝，李运景. RP-HPLC 法测定妇洁洗剂中苦参碱的含量[J]. 中国药师，2010(1)：142 - 143

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：化学工业出版社，2010，附录 VI B.

(2013-06-10 收稿，2013-08-18 修回)

编辑：周　凌

(上接第 484 页)

分析[J]. 甘肃科技，2012(2)：125 - 126.

[2] 俞慧强，袁兆康，陈婷婷. 2007 年与 2010 年江西省县级综合医院卫生人力资源比较研究[J]. 南昌大学学报(医学版)，2011(7)：35 - 37.

[3] 张晓东，陈楠，王慧强. 宁夏某县乡村卫生机构人力资源现状调查[J]. 宁夏医科大学学报，2009(1)：108 - 109.

[4] 王立，胡晓林，樊均明，等. 新医改下基层医疗卫生人力资源配置现状及综合性大学医学资源对策探讨[J]. 西部医学，2010(7)：1370 - 1372.

[5] 来有文，扎西达娃，李顺平. 西藏卫生人力资源配置研究[J]. 中国卫生经济，2012(18)：16 - 18.

[6] 冯胜芳，李林贵，慕兴鹏，等. 西部地区卫生人力资源存在的问题及对策[J]. 中国初级卫生保健，2012(9)：14 - 16.

[7] 段晨辉，袁兆康，俞慧强. 江西省县级综合医院基础设施和服务功能分析[J]. 南昌大学学报(医学版)，2011(7)：21 - 24.

(2013-05-26 收稿，2013-07-03 修回)

编辑：文箐颖