

· 研究报告 ·

复方玉红栓的质量标准研究

胡叶帅, 唐晓萌, 王志君, 黄月英, 王晓君, 宋洪杰 (海军军医大学长海医院药学部, 上海 200433)

[摘要] **目的** 建立复方玉红栓的质量标准。**方法** 采用 TLC 法对白芷、松香和苦参 3 种中药材进行定性鉴别; 采用 HPLC-二极管阵列检测法同时测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁含量, 以甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 值至 3.3)为流动相, 梯度洗脱, 于 280 nm 波长处检测磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁。**结果** 所建立的 3 种药材 TLC 鉴别法专属性良好, 斑点清晰; 磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁分别在 12.40 ~ 99.20 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$)、2.56 ~ 20.48 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$) 范围内线性关系良好, 平均回收率为 $(99.21\pm0.43)\%$ ($n=9$)、 $(99.54\pm0.68)\%$ ($n=9$)。**结论** 本研究所建立的方法准确、灵敏, 重现性好, 所建标准可用于复方玉红栓的质量控制。

[关键词] 复方玉红栓; 白芷; 松香; 苦参; 磺胺嘧啶; 盐酸达克罗宁

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2022)01-0076-03

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202103003

Study on quality standard of compound Yuhong suppository

HU Yeshuai, TANG Xiaomeng, WANG Zhijun, HUANG Yueying, WANG Xiaojun, SONG Hongjie (Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To establish the quality standard of compound Yuhong suppository. **Methods** *Angelica dahurica*, colophony and *Sophora flavescens* Alt. were identified by thin layer chromatography (TLC) method. The contents of sulfadiazine and dyclonine hydrochloride were determined by HPLC with diode array detection method. The mobile phase was methanol-0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate (adjusted to pH 3.3 with phosphoric acid) for gradient elution. The detection wavelength was 280 nm for sulfadiazine and dyclonine hydrochloride. **Results** The three Chinese traditional medicines were identified by TLC with clear spots. The linear ranges of sulfadiazine and dyclonine hydrochloride were good in 12.40-99.20 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$) and 2.56-20.48 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$). The average recovery was $(99.21\pm0.43)\%$ ($n=9$) and $(99.54\pm0.68)\%$ ($n=9$). **Conclusion** This method is accurate, sensitive, and reproducible. It can be used as a standard method for the quality control of compound Yuhong suppository.

[Key words] compound Yuhong suppository; *Angelica dahurica*; colophony; *Sophora flavescens* Alt.; sulfadiazine; dyclonine hydrochloride

复方玉红栓是长海医院特色医院制剂, 处方由磺胺嘧啶、盐酸达克罗宁、苦参、槟榔、松香、紫草、白芷等中西药组成, 临床使用有 30 多年历史。该药具有消炎^[1]、止痛^[2]及止血^[3]等作用, 用于治疗混合痔内出血、内痔水肿脱垂、单纯内痔出血等, 临床疗效显著, 但目前质量标准仅对 2 种化学药盐酸达克罗宁和磺胺嘧啶进行鉴别和含量测定, 其他成分未制定质量标准, 有待提升。本研究建立了苦参、松香、白芷的 TLC 鉴别方法, 同时建立测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁含量的 HPLC 方法, 实现更好地控制本品质量、提高疗效稳定性和可靠性、增强临床使用的安全性目的。

[作者简介] 胡叶帅, 药师, Email: huyeshuai_2008@126.com

[通信作者] 宋洪杰, 副主任药师, 研究方向: 药品质量控制, Email: h_jsong@126.com

1 材料

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 (包括 LC-20AD 泵、SPD-M20A 二极管阵列检测器、CBM-20A 控制器和 LC solution 工作站, 日本岛津公司); Goodsee-20E 型薄层成像系统 (上海科哲生化科技有限公司); BT124S 电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); UV2550 紫外分光光度计 (日本岛津公司); DL-720A 超声波清洗器 (上海之信仪器有限公司); HWS24 型电热恒温水浴锅 (上海一恒科技有限公司); 硅胶 G 薄层板 (上海东方药品科技实业有限公司, 规格 10 cm×10 cm, 批号: 20190426); 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板 (上海东方药品科技实业有限公司, 规格 10 cm×10 cm, 批号: 20141129)。

1.2 试药

复方玉红栓(本院自制,规格:每粒重 1.4g,磺胺嘧啶 25 mg、含盐酸达克罗宁 5 mg;包装:7 粒/盒,批号:200518、190531、190225),松香酸(批号 A25F6C1,含量大于 90%,上海源叶生物科技有限公司),磺胺嘧啶(批号 100026-201404,含量 99.7%),盐酸达克罗宁(批号 100423-201102、含量 99.8%),苦参碱(批号 110805-201709,含量 99.6%),白芷药材(批号 120984-200602),苦参药材(批号 121019-201604)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯,其余所用化学试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 TLC 鉴别

2.1.1 白芷

取本品 7 粒(批号 200518),加乙醇 200 ml,水浴加热使溶解,放冷至室温,抽滤,滤液挥至无醇味后,加 0.1 mol/L 盐酸溶液 100 ml,加热使溶解,静置分层,取上层溶液,加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 100 ml,萃取,取下层溶液,用盐酸调节 pH 值至 5,加石油醚(30~60℃)50 ml 萃取 2 次^[4],合并石油醚层挥干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,作供试品溶液;同法制备缺白芷的阴性溶液;另取白芷药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。取上述 3 种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙醚(6:5)为展开剂,展开,取出晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,阴性对照在此相应位置无斑点。薄层色谱图见图 1A。

2.1.2 松香

取本品 1 粒(批号 200518),加乙醇 100 ml^[5],水浴加热使溶解,冷藏 1 h,取出过滤,取滤液挥干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,取上清液作供试品溶液;同法制备缺松香的阴性溶液;另取松香酸对照品适量,加乙醇溶解制成每 1 ml 含松香酸 1 mg 的溶液,作对照品溶液。取上述 3 种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰醋酸(8:2:0.1)为展开剂^[6],展开,取出晾干,置紫外灯(254 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,阴性对照在此相应位置无斑点。薄层色谱图见图 1B。

2.1.3 苦参

取本品 14 粒(批号 200518),加 0.1mol/L 盐酸

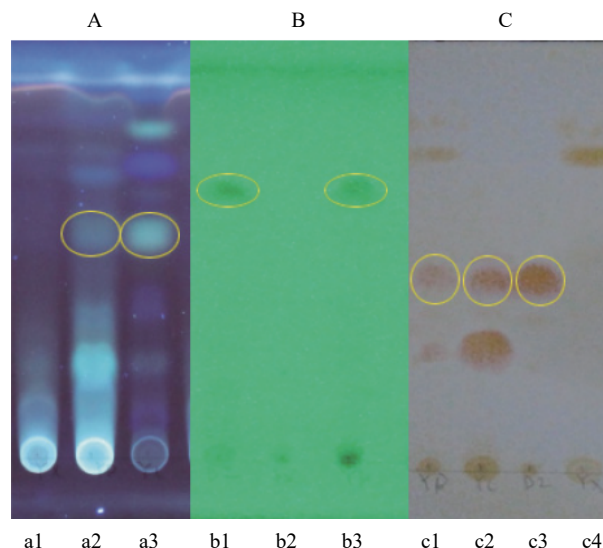


图 1 复方玉红栓的 TLC 图

a1.白芷阴性对照溶液;a2.白芷供试品溶液;a3.白芷对照药材溶液;
b1.松香供试品溶液;b2.松香阴性对照溶液;b3.松香酸对照品溶液;
c1.苦参供试品溶液;c2.苦参对照药材溶液;c3.苦参碱对照品溶液;
c4.苦参阴性对照溶液。

溶液 100 ml,水浴加热使溶解,分取下层溶液,同法操作 2 次合并下层溶液,加 2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 9,加三氯甲烷 50 ml 萃取 2 次^[7],取三氯甲烷层挥干,残渣加乙醇 2 ml 使其溶解,作供试品溶液;同法制备缺苦参的阴性溶液;另取苦参药材 1 g,同法制成对照药材溶液;取苦参碱适量,加乙醇溶解制成每 1 ml 含苦参碱 0.5 mg 的溶液,作对照品溶液。取上述 4 种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-二乙胺(5:4:0.5)为展开剂,展开,取出晾干,喷以稀碘化铋钾试液显色^[8],置日光灯下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上,显相同颜色斑点,阴性对照在此相应位置无斑点。薄层色谱图见图 1C。

2.2 HPLC 法同时测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁含量

2.2.1 色谱条件

SHIMADZU C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为甲醇(A)-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(B),用磷酸调节 pH 值至 3.3,梯度洗脱(0~6.0 min, 25 % B; 6.0~25.0 min, 50 % B; 25.0~30.0 min, 25 % B);流速:1.0 ml/min;柱温:室温;检测波长:280 nm;进样量:20 μ l。

2.2.2 溶液制备

(1)对照品溶液:取磺胺嘧啶对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含磺胺嘧啶 0.25 mg 的溶液,作为储备液 1;取盐酸达克罗宁对照品适量,精

密称定,加甲醇制成每 1 ml 含盐酸达克罗宁 0.25 mg 的溶液,作为储备液 2;精密量取储备液 1 和储备液 2 适量,加流动相稀释制成每 1 ml 含磺胺嘧啶 50 μg 、盐酸达克罗宁 10 μg 的混合对照品溶液。

(2)供试品溶液:取本品 10 粒(批号 200518),切碎,取约 0.7 g(相当于磺胺嘧啶 12.5 mg,盐酸达克罗宁 2.5mg),精密称定,置 50 ml 量瓶中,加甲醇 25 ml,90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 5 min,放冷,加甲醇稀释至刻度,摇匀,冷藏静置 1 h,滤过,取续滤液放至室温,再精密量取续滤液 5 ml,置 25 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度、摇匀,作供试品溶液。

(3)阴性样品溶液:根据处方制备不含磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的阴性样品,再按(2)项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.3 专属性试验

分别取“2.2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 20 μl 注入液相色谱仪,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,结果见图 2。结果表明,在混合对照品色谱相应位置上,供试品溶液色谱图中均具有相同保留时间的色谱峰,而阴性对照液在此处均无吸收峰,表明检验方法的专属性良好。

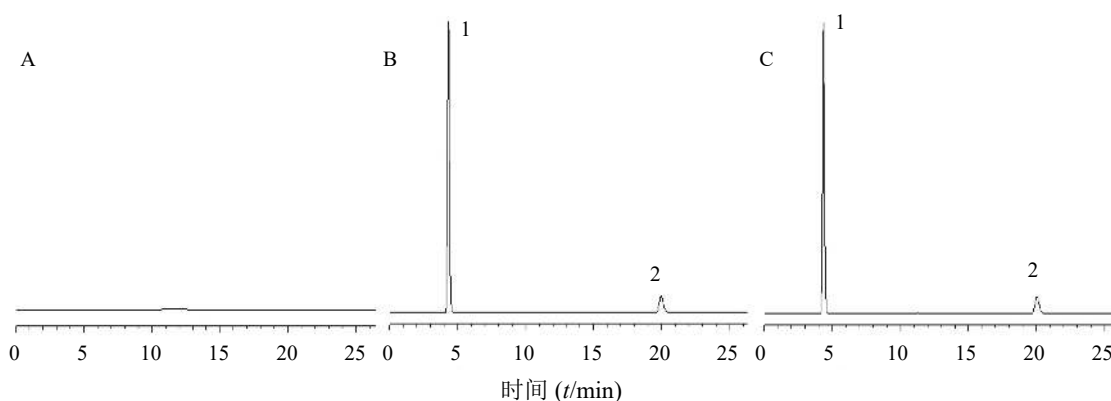


图 2 复方玉红栓 HPLC 色谱图

A. 阴性对照溶液; B. 供试品溶液 C. 混合对照品溶液; 1. 磺胺嘧啶; 2. 盐酸达克罗宁。

2.2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下(1)的储备液 1 和储备液 2 适量,用流动相稀释,配制磺胺嘧啶系列浓度为 12.40、24.80、49.60、74.40、99.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,盐酸达克罗宁系列浓度 2.56、5.12、10.24、15.36、20.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的混合对照品溶液。按“2.2.1”项下色谱条件,进样 20 μl ,记录峰面积,以对照品浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,进行线性回归分析,得到磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的回归方程分别为 $A_{\text{盐酸达克罗宁}} = 77680 C + 44018 (r=0.9999)$,线性范围 2.56 ~ 20.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$; $A_{\text{磺胺嘧啶}} = 72528 C + 2862.9 (r=0.9999)$,线性范围 12.40 ~ 99.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。结果表明磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁在相应范围内线性关系良好。

2.2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下(1)的混合对照品溶液 20 μl ,按“2.2.1”项下色谱条件重复进样 6 次;同法操作,每天进样 1 次,共进样 6 d,分别记录,按峰面积计算得磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的日内精密密度分别为 0.07 % 和 0.58 % ($n=6$),日间精密密度分别为 1.60 % 和 1.65 % ($n=6$)。结果表明仪器精密密度良好。

2.2.6 稳定性试验

分别取同一供试品溶液(批号 200518),在 0、1、2、4、8、12 h 按“2.2.1”项下色谱条件进样,按峰面积计算得磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的 RSD 分别为 0.74 % 和 0.92 % ($n=6$),表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验

取本品(批号 200518),按“2.2.2”项下(2)的方法制备供试品溶液 6 份,按“2.2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积,计算磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的 RSD 分别为 1.90 % 和 1.58 % ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.2.8 回收率试验

按处方工艺制备磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁标示量为 80%、100%、120% 的 3 种样品,按“2.2.2”项下(2)的方法制备供试品溶液各 3 份,并按“2.2.1”项下条件测定,计算平均回收率,结果表明磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的平均回收率分别为 $(99.10 \pm 0.48)\%$ 、 $(99.54 \pm 0.68)\%$ ($n=9$)。

2.2.9 含量测定

取 3 个批号样品,分别按“2.2.2”项下(2)的处理
(下转第 83 页)

- chondrial K(ATP) channels attenuates the ouabain-induced calcium overload in mitochondria[J]. *Circ Res*, 2001, 89(10): 856-858.
- [14] 曹芳芳, 李艳芳, 张玲姬, 等. 麝香保心丸对心力衰竭大鼠内皮素1和肾上腺髓质素水平的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2010, 12(5): 448-451.
- [15] 钟春荣, 符传艺, 张捷君, 等. 微小RNA-497在麝香保心丸治疗AMI后心室重构中的作用研究[J]. *中南医学科学杂志*,

- 2020, 48(4): 368-373.
- [16] 魏姗姗, 詹常森, 邓中平. 麝香保心丸安全性研究概述[J]. *中成药*, 2015, 37(5): 1080-1082.
- [17] 谭巨涛, 沈洪. 麝香保心丸改善行冠状动脉介入术的急性冠状动脉综合征患者心肌微循环的研究[J]. *山西医药杂志(上半月)*, 2011(6): 612-613.
- [收稿日期] 2020-08-04 [修回日期] 2021-01-05
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 78 页)

方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定峰面积, 代入回归方程计算含量, 结果见表 1。

表 1 磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的含量测定结果
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

批号	磺胺嘧啶含量(mg/粒)	盐酸达克罗宁含量(mg/粒)
200518	24.62±0.50	4.88±1.02
190531	24.55±0.78	4.97±0.72
190225	24.18±0.41	4.68±0.48

3 讨论

3.1 薄层色谱鉴别

复方玉红栓是以混合脂肪酸甘油酯作为油脂性基质的栓剂, 中药成分在处方中含量少, 以原药材总量计仅为 4%, 油脂性基质占比 90%, 药物受基质影响很大, 若操作过程中油脂性基质未完全除去, 中药有效成分提取不完全, 实验时易发生斑点拖尾甚至没有斑点显现, 严重影响鉴别的专属性和灵敏度, 所以在操作过程中去除干扰的油脂性基质和选择合适提取方法至关重要^[9]。根据待测药材的成分特性, 本研究在参考文献的基础上建立了白芷、松香、苦参 3 种中药材的提取和 TLC 鉴别方法, 所建立的方法可以用于复方玉红栓剂中 3 种药材的鉴别。本研究还尝试建立紫草和槟榔的 TLC 鉴别方法, 但两者在处方中所占比例更少, 大量混合脂肪酸甘油酯严重干扰两味药材的提取, 因此尚未建立它们特征性的鉴别方法。

3.2 HPLC 法同时测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁含量

目前尚未见有同时测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁的研究报道。本研究采用甲醇-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 值至 3.3)为流动相, 建立了梯度洗脱条件, 同时测定两者的含量。对色谱条件考察时发现, 随着 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶

液比例增加, 盐酸达克罗宁出峰时间提前, 但峰形不对称影响测定准确性, 经过摸索最终确定本实验洗脱比例^[10]。研究中考察了两种成分的提取条件, 发现不同的提取温度和时间影响提取效率, 盐酸达克罗宁不稳定^[11], 遇热易发生降解, 本实验摸索了水浴温度 90℃, 提取 5 min 的条件, 既保证了有效成分提取完全又防止了盐酸达克罗宁的降解。

本研究首次建立了松香、苦参、和白芷的薄层色谱鉴别方法, 此方法操作性强, 斑点显色清晰; 用 HPLC 法同时测定磺胺嘧啶和盐酸达克罗宁, 此方法的准确性、重现性好, 符合快速测定要求。本研究为该制剂全面控制药品质量和临床疗效提供了重要依据。

【参考文献】

- [1] 林文铭. 盐酸达克罗宁的药学研究进展[J]. *临床合理用药杂志*, 2019, 12(31): 180-181.
- [2] 陈煜. 磺胺嘧啶银的研究进展[J]. *中国现代药物应用*, 2013, 7(23): 224-225.
- [3] 袁慧勤, 胡迪. 紫草的药理作用及单味药临床外用概述[J]. *医学综述*, 2015, 21(3): 504-506.
- [4] 王昱官, 元伟, 王璇. 上清丸(水丸)白芷薄层色谱鉴别方法研究[J]. *广东化工*, 2016, 43(7): 51-27.
- [5] 李安琪, 王艳宏, 笔雪艳. 常用松香酸检查方法的对比分析及在三种中成药中的应用[J]. *中医药学报*, 2017, 45(1): 47-50.
- [6] 汪杨丽, 苏晶, 张毅. 舒筋活血丸中非法添加物松香酸的检测方法[J]. *中国现代中药*, 2015, 17(3): 244-246.
- [7] 蔡晓敏. 苦参洗液的薄层色谱鉴别[J]. *海峡药学*, 2017, 29(2): 75-77.
- [8] 杜西翠, 李云波, 郭艳钦, 等. 三味拳参口服液苦参的薄层鉴别方法研究[J]. *中兽医医药杂志*, 2019, 38(3): 61-63.
- [9] 范凌云, 余琰, 魏舒畅, 等. 新工艺三黄栓体外释药特性考察与比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(12): 37-39.
- [10] 庾芹, 郝新才. 反相高效液相色谱法测定复方磺胺嘧啶分散片中磺胺嘧啶的含量[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2013, 13(7): 626-628.
- [11] 张小瑞, 王金波, 慕高萌. 1%盐酸达克罗宁凝胶的制备及质量控制[J]. *实用药物与临床*, 2015, 18(1): 66-69.
- [收稿日期] 2021-03-02 [修回日期] 2021-07-23
[本文编辑] 李春德