

苦豆子总碱泡腾栓的制备及质量标准研究 [△]

王 婷 , 乔 华 , 梁 莉 , 李 琳 , 闵光宁 , 郭小冬 (兰州大学第一医院 , 兰州市 730000)

中图分类号 R283.624; R984 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)18-1376-03

摘 要 目的: 制备苦豆子总碱泡腾栓并研究其质量标准。方法: 以苦豆子总碱(TASa) 为主药制备苦豆子总碱泡腾栓; 用 HPLC 法测定氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱的含量; 色谱柱为 Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm), 流动相为乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸钾缓冲液 (2%三乙胺) = 10.5: 89.5, 检测波长为 210nm, 柱温为室温, 流速为 1.0mL·min⁻¹。结果: 上述 3 种生物碱分别在 1~ 10、10~ 60、5~ 40μg·mL⁻¹ 浓度范围内与平均峰高呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 76.63%、83.14%、95.2%, 日内及日间 RSD 均小于 0.07%。结论: 该制剂制备工艺简单, 所建标准可用于制剂的质量控制。
关键词 苦豆子总碱; 泡腾栓; 制备; 质量标准

Preparation and Quality Standard of Total Alkaloids of *Sophora Alopecuroides* Effervescent Suppository
WANG Ting, QIAO Hua, LIANG Li, LI Lin, MIN Guangning, GUO Xiaodong(The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Total alkaloids of *Sophora alopecuroides*(TASa) effervescent suppository and to study its quality standard. METHODS: The suppository was prepared with TASa as principal agent, and the contents of the three alkaloids—Oxymatrine, Matrine and Sophocarpine in the suppository were determined by HPLC with Diamonsil C₁₈ (150mm×4.6mm, 5μm) used as chromatographic column and mobile phase consisted of acetonitrile-0.05mol·L⁻¹ K₃PO₄ buffer solution (2% triethylamine) = 10.5: 89.5. The UV detection wavelength was 210nm; the column temperature was set at room temperature and the flow rate was 1.0mL·min⁻¹. RESULTS: The linear ranges for the above 3 alkaloids were 1~ 10, 10~ 60 and 5~ 40μg·mL⁻¹, respectively. The average recoveries of the three were 76.63%, 83.14% and 95.2%, respectively. The intra-day and inter-day relative standard deviation(RSD) was less than 0.07%. CONCLUSION: The suppository is simple in preparation, and the established standard can be used as a quality control of this preparation.
KEY WORDS Total alkaloids of *Sophora alopecuroides*; Effervescent suppository; Preparation; Quality standard

表 1 伤疡愈软膏对大鼠创面 b- FGF mRNA 表达水平的影响($\bar{x} \pm s$, %)

Tab 1 Effects of Shangyangyu ointment on the expression of bFGF mRNA of the scalded wound in rats($\bar{x} \pm s$, %)

组别	时间				
	3h	1d	3d	7d	14d
A 组	95.6±9.5	95.6±9.5	95.6±9.5	95.6±9.5	95.6±9.5
B 组	89.3±10.3	112.8±16.6	106.2±13.8	104.3±19.3	110.7±16.0
C 组	98.8±11.7	144.8±18.3	135.2±14.1	124.0±16.7	126.7±16.5

与 A、B 组比较 $P < 0.05$
vs. group A and B: $P < 0.05$

抗变态反应, 对皮下肉芽组织的形成具有促进作用, 可明显加速创伤的愈合并提高表皮免疫系统细胞的作用, 加速上皮生长, 促进创伤愈合。黄柏中的小檗碱具有强大的抗炎作用, 可抑制合并症的发生。蒲公英对创面的绿脓杆菌有特别明显的抑制作用。血竭具抗炎、抗菌作用, 对伤口愈合亦具明显促进作用。煅石膏具收敛、生肌、止痛的作用, 还可减少伤口的组织分泌物, 减少炎症的发生。冰片外搽对感觉神经有轻微刺激作用, 呈现局部的温和止痛效果, 对烧伤具防腐、抗感染作用。上述配伍具有相互协同的作用, 可清热解毒, 促进创面愈合, 减少疤痕的形成。

[△] 甘肃省中医药管理局基金项目(2003- GZK- 40)
主任药师。研究方向: 临床药理学。电话: 0931- 8625200- 6748。E- mail: ting_w6710@163.com

b- FGF 是一种肝素结合型的多肽, 具有多种生物活性, 其典型的作用是诱导细胞的增殖及形态改变, 在细胞分化过程中也具有一定的作用^[2,3]。已有文献报道应用 b- FGF 可治疗创伤性溃疡^[4]。由本实验结果可知, C 组 b- FGF mRNA 表达水平显著高于 A 组, 且创面的愈合时间短于 B 组; 与 B 组比较, 在第 1 天、第 3 天表达水平有显著差异, 说明伤疡愈软膏是通过增加内源性 b- FGF 的表达来促进伤口细胞增殖、加速伤口愈合的。但关于 b- FGF 在创伤组织愈合过程中表达的程序有待于进一步研究。

参考文献

[1] Piherer MF, Mackat AM, Becr SC, *et al*. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell[J]. *Science*, 1999, 284(5411): 143.
[2] 谷廷敏, 牛星焘, 陈东明, 等. 创面愈合过程中内源性 FGF 含量变化的研究 [J]. 实用美容整形外科杂志, 1997, 8(6): 327.
[3] 顾小曼, 付小兵, 孙同柱, 等. 烫伤大鼠创面成纤维细胞生长因子及 c- fos 基因表达对修复结局的影响[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(9): 570.
[4] 胡亚兰, 郭树忠, 鲁开化, 等. 碱性成纤维细胞生长因子治疗老年人下肢创伤性溃疡 16 例[J]. 中华创伤杂志, 2001, 17(7): 437.
(收稿日期: 2006- 10- 10 修回日期: 2007- 03- 05)

妇科炎症是临床常见病、多发病。据文献报道,我国阴道炎的平均发病率占已婚妇女的90%以上。苦豆子总碱泡腾栓作为一种治疗阴道炎的新型外用药,具有起效迅速、作用时间长、载药量大、清热解毒、驱风燥湿、止痛杀虫等优点^[1]。

1 材料

1.1 仪器

鸭嘴型栓剂模(浙江省诸暨医药机械厂);精密酸度计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);高效液相色谱仪(美国Perkin Elmer公司);Kontes溶剂过滤系统(美国Kontes公司);KUDOS SK8200H超声波发生器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

苦豆子总生物碱(宁夏盐池制药厂,含量>98%,批号:20031025);氧化苦参碱对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号:780-200004);苦参碱对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号:0805-200005);槐果碱对照品(宁夏夏顺化工有限公司,批号:051031,含2分子结晶水,按无水计算含量为95.0%);硬脂酸聚羟氧(40)酯(南京威尔化工有限公司,批号:030312);乙腈、甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司禹城化工厂);碳酸氢钠、枸橼酸为分析纯。

2 处方与制备

2.1 处方

苦豆子总碱 70g,碳酸氢钠 300g,枸橼酸 270g,硬脂酸聚羟氧(40)酯 3188g。

2.2 制备

将枸橼酸在105℃干燥1h,碳酸氢钠在50℃干燥2h,分别研细,过100目筛,备用;称取处方量的硬脂酸聚羟氧(40)酯和苦豆子总碱,水浴加热熔融,在搅拌下依次加入碳酸氢钠和枸橼酸,混合均匀倒入鸭嘴型栓剂膜具中,冷却脱膜,即得。

3 质量标准

3.1 性状

本品为淡黄色鸭嘴型栓剂,每粒含苦豆子总碱70mg,表面光滑,色泽均一。

3.2 鉴别

取该栓剂1枚,加60%乙醇适量,60℃水浴,冷却后酸化提取液。提取液1mL,滴加碘化铋钾试液,出现暗赤色沉淀;另取提取液1mL,滴加磷钨酸试剂,产生白色沉淀。

3.3 检查

3.3.1 重量差异:依照2005年版《中国药典》(二部)附录I D“控制”项下内容^[2]检查,结果符合规定。

3.3.2 变形温度测定:将5粒栓剂直立于100mL烧杯中,由上部施以300g的重力,在水浴中用液体石蜡作为传热递质,以0.5~0.7℃·min⁻¹的速度升温,到栓剂被完全压扁时的温度即为变形温度,测定结果为45℃。

3.3.3 融变时限:依照2005年版《中国药典》(二部)附录X B“控制”项下内容^[2]检查,结果符合规定。

3.3.4 发泡时间、泡沫量、泡沫持续时间的测定:在2个100mL的量筒中分别加水1、10mL,置40℃水浴中,5min后

各加入1粒栓剂,观察并记录。结果,加水1、10mL的量筒中起泡时间分别为27、19s,泡沫量分别38、53mL,泡沫持续时间均大于2h。

3.3.5 pH值的测定:取1粒栓剂置于50mL烧杯中,加水10mL,置40℃水浴中,使之完全溶解,测得pH值为6.26。

3.4 含量测定

3.4.1 色谱条件:色谱柱为Diamondsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm),带有前置保护柱,流动相为乙腈-0.05mol·L⁻¹磷酸二氢钾(KH₂PO₄)缓冲液(2‰三乙胺)=10.5:89.5,检测波长为210nm,流速为1.0mL·min⁻¹,柱温为室温。在该色谱条件下,氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱得到较好的分离,保留时间分别为5.82、8.53和12.18min。色谱详见图1。

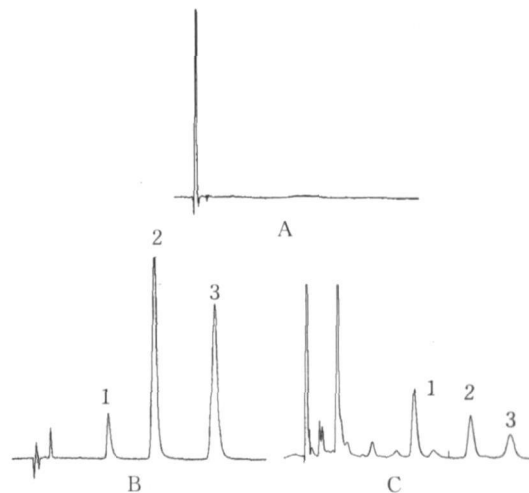


图1 高效液相色谱

A. 空白样品;B. 对照品;C. 样品;1. 氧化苦参碱;2. 苦参碱;3. 槐果碱

Fig 1 HPLC

A. blank sample; B. reference substance; C. sample; 1. Oxymatrine; 2. Matrine; 3. Sophocarpine

3.4.2 溶液的配制:①对照品溶液:精密称取氧化苦参碱对照品20.5mg、苦参碱对照品20.1mg、槐果碱标准品20.0mg,分别置于10mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,精密量取各贮备液2mL,置于10mL容量瓶中,加水定容至刻度,得氧化苦参碱、苦参碱、槐果碱的对照品溶液。②供试品溶液:精密称取苦豆子泡腾栓5枚,求平均栓重,剪碎,精密称取相当于1枚苦豆子泡腾栓的量,置于100mL容量瓶中,加水使之充分溶解并定容至刻度,置暗处避光保存,临用前稀释10倍,即得。

3.4.3 线性关系考察:精密量取氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱对照品溶液,置于同一容量瓶中,加水定容至刻度,使之成为每1mL含氧化苦参碱10、5、3、2、1μg,含苦参碱60、40、30、20、10μg,含槐果碱40、20、15、10、5μg的系列标准溶液,按上述色谱条件进样分析,每次进样20μL,得氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱的回归方程分别为 $C = 0.1905H - 0.292$ ($r = 0.9989$); $C = 0.2485H - 0.7036$ ($r = 0.9986$); $C = 0.220H - 0.175$ ($r = 0.9995$)。结果表明,氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱分别在1~10、10~60和5~40μg·mL⁻¹浓度范围内与平均峰高呈良好线性关系。

3.4.4 精密度试验: 选取氧化苦参碱(2、5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、苦参碱(20、40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、槐果碱(10、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的系列标准溶液,按“3.4.1”项下色谱条件进样20 μL ,连续进样5次,即得日内精密度;取上述供试品溶液,于不同日进样5次,每次20 μL ,连测3d,即得日间精密度,结果详见表1。

表1 精密度试验结果($n=5$)

Tab 1 Results of precision test($n=5$)				
样品名称	配制浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	实测浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	日内RSD/%	日间RSD/%
氧化苦参碱	2	2.13 $\pm$ 0.14	6.6	5.4
	5	5.45 $\pm$ 0.16	2.9	3.4
苦参碱	20	15.77 $\pm$ 0.11	0.7	0.4
	40	33.10 $\pm$ 1.09	3.3	2.9
槐果碱	10	9.10 $\pm$ 0.05	0.6	0.5
	20	18.57 $\pm$ 0.70	3.8	1.9

3.4.5 加样回收率试验: 称取已测知含量的苦豆子总碱泡腾栓样品5份,每份均为70 μg ,分别加入氧化苦参碱对照品1 μg 、苦参碱对照品10 μg 及槐果碱对照品7.5 μg ,按样品分析方法进行测定。结果,氧化苦参碱、苦参碱和槐果碱的平均加样回收率分别为76.63%、83.14%和95.2%,日内及日间RSD均小于0.07%。

3.4.6 样品含量测定: 取“3.4.2”项下供试样品溶液,经过滤、离心后在上述色谱条件下进样,每次20 μL ,每种样品测定5次,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果($n=5$)

Tab 2 Determination results of the content of samples($n=5$)		
样品	含量/ $\text{mg} \cdot \text{枚}^{-1}$	RSD/%
氧化苦参碱	3.50 $\pm$ 0.09	2.6
苦参碱	19.00 $\pm$ 0.11	0.6
槐果碱	11.00 $\pm$ 0.09	0.8

4 临床应用

随机选择我院2005年4月~2006年4月门诊阴道炎患者142例,其中老年性阴道炎36例、霉菌性阴道炎38例、滴虫性阴道炎36例、混合性阴道炎32例。年龄18~65a。采用苦豆子泡腾栓治疗,1枚 $\cdot$ 次 $^{-1}$,1次 $\cdot$ d $^{-1}$,7~10d为1个疗程,下次月经后再用1个疗程。结果,老年性阴道炎、霉菌性阴道炎、滴虫性阴道炎、混合性阴道炎的临床有效率分别为91.7%、89.4%、91.7%和90.6%。一般患者用药1~2d起效,用药1wk后患者主要临床症状明显减轻或消失,局部检查明显好转或正常,分泌物明显减少或正常。复发3例,多在治愈的4~5wk复发,所有复发病例均再次阴道给药1个疗程,结果全部治愈,追踪3mo未再复发。用药期间未发生任何不良反应。

5 讨论

泡腾栓的本质是酸源与碱源在水中发生反应,产生大量泡沫,把药物充分分散到病变部位的释药体系,所以对水的控制

是该类栓剂制备过程的关键,以避免在制备过程中就发生泡腾反应。基质硬脂酸聚氧(40)酯的熔点是40~50 $^{\circ}\text{C}$,实验发现当熔融基质温度超过60 $^{\circ}\text{C}$ 加入碳酸氢钠和枸橼酸时有絮状沉淀产生,所以制备过程中应保持温度在60 $^{\circ}\text{C}$ 以下。

由于阴道是弱酸性环境,而苦豆子总碱具有碱性,为了避免制剂在使用过程中破坏阴道的正常生理环境,笔者多加入了一些枸橼酸来调节制剂到弱酸性,所以栓剂处方中的枸橼酸包括了泡腾剂和pH调节剂2个部分。

生物碱的测定一般采取酸碱滴定法^[3]、酸性染料分光光度计法^[4]。由于本栓剂在制备过程中加入了酸、碱,故酸碱滴定法不适用。S-40与氧化苦参碱在同样波长处有最大吸收,因此酸性染料分光光度计法也不适用。

苦参碱的高效液相测定方法文献报道的流动相系统有碱性、酸性以及离子对系统。笔者比较了pH2.0和pH7.02种流动相系统。结果,酸性流动相系统出峰慢,峰型好,但氧化苦参碱易于与流动相发生反应而分解,难以测定,出峰顺序依次为氧化苦参碱、苦参碱、槐果碱;碱性系统出峰慢,峰型拖尾,苦参碱不能有效分离,出峰顺序依次为氧化苦参碱、苦参碱、槐果碱,故采用pH值为6.442的乙腈-KH₂PO₃缓冲液(2%三乙胺)流动相系统进行苦豆子泡腾栓中3种生物碱的分离测定。

对于样品前处理,文献报道的均为将样品调为碱性后,用氯仿提取,挥干,残渣溶解,稀释后进样。笔者在比较了提取和不提取进样的色谱图后,发现在文中色谱条件下,均能将3种生物碱与其它杂质有效分开,经计算结果无显著差异,故样品不需提取,直接进样即可,大大简化了分析步骤,减少了影响因素,使精密度、准确度提高。

苦豆子总碱泡腾栓使药物广泛地分布于阴道皱褶部,泡腾剂易与分泌物接触,崩解快,起泡速度快,刺激性小。本组病例观察到用药后患者主要临床症状明显减轻,局部检查明显好转,病原体转阴。老年性阴道炎、霉菌性阴道炎、滴虫性阴道炎、混合性阴道炎临床总有效率分别为91.7%、89.4%、91.7%及90.65。说明苦豆子总碱泡腾栓具有明显的抗菌杀滴虫、抗炎消肿及镇痛止痒作用,值得进一步研究开发。

参考文献

[1] 陶上乘,王静珍.苦豆子生物碱的药理作用[J].中国药学杂志,1992,27(4):201.
[2] 国家药典委员会编.中华人民共和国药典(二部)[S].2005年版.北京:化学工业出版社,2005:附录7、8.
[3] 李炳生.中草药苦豆子总生物碱的含量测定方法[J].兰州医学院学报,1979,2:22.
[4] 宋学华,宋党明.苦豆草中总生物碱的含量测定方法[J].中草药,1991,22(10):444.

(收稿日期:2006-12-25 修回日期:2007-03-10)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA) 收录期刊, 欢迎投稿、订阅