

本文引用:谷世平,段雪云,蔡 权,李 森,范 恒. 复方苦参合剂的稳定性试验研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(8):1211-1216.

## 复方苦参合剂的稳定性试验研究

谷世平<sup>1</sup>,段雪云<sup>1</sup>,蔡 权<sup>2,3\*</sup>,李 森<sup>3</sup>,范 恒<sup>3</sup>

(1.湖北省中医院/湖北省中医药研究院,湖北 武汉 430061;2.湖北省黄石市第五医院,湖北 黄石 435005;

3.华中科技大学同济医学院附属协和医院,湖北 武汉 430022)

**〔摘要〕**目的 研究复方苦参合剂的稳定性。方法 采用钠钙玻璃输液瓶包装,在高温(60 ℃)、高湿(90%±5%)、强光[(4 500±500) lx]照射下 10 d;在室温自然贮存 18 个月;于(40±2) ℃、相对湿度(75%±5%)条件下贮存 6 个月,按复方苦参合剂质量标准进行检测;采用观察、口尝法确定其性状;采用 pH 计测定 pH 值;比重瓶法测定相对密度;HPLC 法测定含量;微生物限度检查法测定微生物限度。**结果** 与 0 月比较,影响因素试验(0、5、10 d)、加速试验(0、1、2、3、6 个月)、长期试验(0、3、6、9、12、18 个月)中各时间点,复方苦参合剂的性状、pH 值含量、相对密度、微生物限度检查中各项指标均无明显变化( $P>0.05$ ),含量变化也在合格范围内。**结论** 复方苦参合剂的有效期暂定 12 个月,应储存于干燥阴凉处。

**〔关键词〕** 复方苦参合剂;稳定性;影响因素试验;加速试验;长期试验

**〔中图分类号〕**R285

**〔文献标志码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.08.012

### Study on the Stability of Compound Sophorae Mixture

GU Shiping<sup>1</sup>, DUAN Xueyun<sup>1</sup>, CAI Quan<sup>2,3\*</sup>, LI Sen<sup>3</sup>, FAN Heng<sup>3</sup>

(1. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine/Hubei Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Wuhan,

Hubei 430061, China; 2. The Fifth Hospital of Huangshi City, Huangshi, Hubei 435005, China; 3. Union Hospital of Tongji

Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430022, China)

**〔Abstract〕 Objective** To study the stability of Compound Sophorae Mixture. **Methods** Soda-lime glass infusion bottle was used for packaging; high temperature (60 ℃), high humidity (90%±5%), strong light [(4 500±500) lx] for 10 days; natural storage at room temperature for 18 months; at (40±2) ℃, relative humidity (75%±5%) for 6 months; and Compound Sophorae Mixture was tested according to the quality standard of Compound Sophorae Mixture; observation, tasting method was used to determine traits; the pH value was determined by a pH meter; relative density was detected through the pycnometer method; HPLC method was used to detect the content; microbial limit test was used to determine microbial limit. **Results** Compared with 0 month, there were no significant changes ( $P>0.05$ ) in the indicators of the traits, pH content, relative density and microbial limit inspection in each time point in influencing factor test (0, 5, 10 d), accelerated test (0, 1, 2, 3, 6 months) and long-term test (0, 3, 6, 9, 12, 18 months), and the content changes were within the qualified range. **Conclusion** The effective period of the Compound Sophorae Mixture is tentatively 12 months, and it should be stored in a dry and cool place.

**〔Keywords〕** Compound Sophorae Mixture; stability; influencing factor test; accelerated test; long-term test

**〔收稿日期〕**2020-08-10

**〔基金项目〕**国家自然科学基金面上项目(81774093)。

**〔作者简介〕**谷世平,女,副主任药师,研究方向:临床药学、药物的合理应用。

**〔通信作者〕**\* 蔡 权,男,主治医师,E-mail:1144792599@qq.com。

复方苦参合剂是以华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科二十多年治疗溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 常用经验方制成, 由苦参 5 g、地榆炭 5 g、青黛 1 g、白及 3 g、甘草 3 g 组成, 具有清热解毒、燥湿杀虫、生肌止血、消肿敛疮等功效, 适用于中医痢疾及西医 UC 活动期 (湿热证)、克隆恩病或放射性肠炎患者的口服治疗<sup>[1-3]</sup>。通过长期的临床应用及实验研究<sup>[4-6]</sup>发现, 复方苦参合剂可祛大肠湿热秽浊之邪, 促进肠黏膜糜烂、溃疡的愈合, 修复肠道黏膜屏障, 减轻肠道的炎症反应, 改善机体低下的免疫功能状态。临床治疗 UC 患者 3 000 多例, 疗效显著, 有效率达 96% 以上, 其疗效优于临床常用的同类中西医药物<sup>[7-10]</sup>。因此, 复方苦参合剂的开发和应用显得尤为重要和必要, 为确保临床用药安全有效, 本研究将依据《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 9001 项下原料药物与制剂稳定性试验指导原则<sup>[11]</sup>, 对复方苦参合剂进行稳定性考察, 目前复方苦参合剂已取得湖北省医疗机构注册批件, 本研究将为进一步的新药研究开发奠定基础。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Waters2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); BT25S 型十万分之一分析天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司); AR1140/C 万分之一分析天平 (美国奥豪斯公司); ZY-600U 薄层色谱自动成像分析系统 (北京先驱威锋技术开发公司); LHH-80SD 药品稳定性试验箱 (上海一恒科学仪器有限公司); CSH-111GD-IPM 药品强光紫外照射试验箱 (重庆创测科技有限公司)。

### 1.2 试剂

复方苦参合剂由武汉协和医院制剂中心生产, 批号: 20181015、20181017、20181022、20181112、20181114、20181116; 苦参碱对照品 (批号: 110805-201709, 纯度 98.7%)、氧化苦参碱对照品 (批号: 110780-201508, 纯度 92.5%)、槐定碱对照品 (批号: 110784-201706, 纯度 98.4%)、苦参对照药材 (批号: 121019-201708)、白及对照药材 (批号: 121262-201706) 均购自中国食品药品检定研究院, 所有试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 性状考察

按复方苦参合剂质量标准“性状”项下描述进行考察, 观察复方苦参合剂色泽、气味、有无变质现象。本品为棕褐色的液体; 有少量摇之易散的沉淀, 气微香, 味苦。具体检验结果见表 1-3。

### 2.2 薄层色谱鉴别

2.2.1 苦参的鉴别 取复方苦参合剂 10 mL, 加氨水调节 pH=11, 置分液漏斗中, 用二氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加二氯甲烷 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。另取苦参碱对照品, 加二氯甲烷制成 0.5 mg/mL 的苦参碱对照品溶液。取槐定碱对照品, 加乙醇制成 0.2 mg/mL 的槐定碱对照品溶液。

按照薄层色谱法 (《中华人民共和国药典》2015 版四部通则 0502) 试验<sup>[11]</sup>, 吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-丙酮-浓氨试液 (2:4:3:0.2) 为展开剂, 饱和 5 min, 展开, 取出, 晾干, 喷以改良碘化铋钾试液。在

表 1 影响因素试验结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

条件	时间/d	性状	薄层鉴别	相对密度/(g·mL <sup>-1</sup> )	pH 值	含量/(mg·mL <sup>-1</sup> )	微生物限度
-	0	符合规定	符合规定	1.04±0.002	6.2±0.019	0.74±0.018	符合规定
高温	5	符合规定	符合规定	1.04±0.003	6.2±0.002	0.74±0.065	符合规定
	10	符合规定	符合规定	1.04±0.011	6.2±0.003	0.74±0.076	符合规定
高湿	5	符合规定	符合规定	1.04±0.001	6.2±0.021	0.74±0.032	符合规定
	10	符合规定	符合规定	1.04±0.005	6.2±0.035	0.74±0.033	符合规定
强光照射	5	符合规定	符合规定	1.04±0.004	6.2±0.026	0.74±0.011	符合规定
	10	符合规定	符合规定	1.04±0.005	6.2±0.020	0.74±0.026	符合规定

注:“-”表示质量标准含量测定项下条件

表2 加速试验结果( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

供试品批号	时间/月	性状	薄层鉴别	相对密度/(g·mL <sup>-1</sup> )	pH 值	含量/(mg·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	微生物限度
20181112	0	符合规定	符合规定	1.04±0.002	6.2±0.001	0.66±0.002	4.40	符合规定
	1	符合规定	符合规定	1.04±0.005	6.2±0.008	0.74±0.013		符合规定
	2	符合规定	符合规定	1.03±0.023	6.2±0.005	0.70±0.014		符合规定
	3	符合规定	符合规定	1.03±0.052	6.3±0.006	0.73±0.022		符合规定
	6	符合规定	符合规定	1.03±0.022	6.3±0.020	0.71±0.036		符合规定
	20181114	0	符合规定	符合规定	1.04±0.002	6.2±0.006		0.71±0.005
1	符合规定	符合规定	1.04±0.006	6.2±0.003	0.69±0.022	符合规定		
2	符合规定	符合规定	1.03±0.003	6.3±0.023	0.74±0.007	符合规定		
3	符合规定	符合规定	1.03±0.003	6.3±0.026	0.73±0.006	符合规定		
6	符合规定	符合规定	1.03±0.002	6.3±0.028	0.73±0.014	符合规定		
20181116	0	符合规定	符合规定	1.04±0.006	6.3±0.002	0.69±0.006	3.56	符合规定
1	符合规定	符合规定	1.04±0.003	6.1±0.003	0.73±0.018	符合规定		
2	符合规定	符合规定	1.03±0.002	6.3±0.020	0.74±0.025	符合规定		
3	符合规定	符合规定	1.03±0.005	6.2±0.015	0.72±0.023	符合规定		
6	符合规定	符合规定	1.03±0.002	6.3±0.004	0.76±0.025	符合规定		

表3 长期试验结果

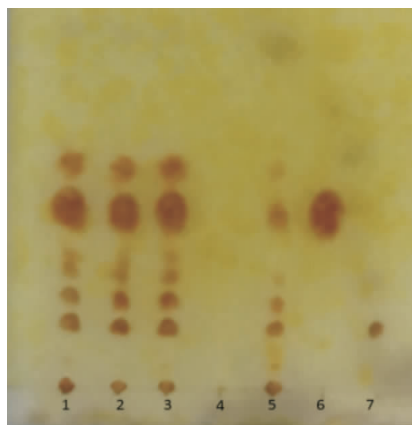
供试品批号	时间/月	性状	薄层鉴别	相对密度/(g·mL <sup>-1</sup> )	pH 值	含量/(mg·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%	微生物限度
20181015	0	符合规定	符合规定	1.04±0.005	6.2±0.031	0.74±0.005	1.70	符合规定
	3	符合规定	符合规定	1.03±0.004	6.4±0.002	0.70±0.012		符合规定
	6	符合规定	符合规定	1.03±0.012	6.4±0.001	0.72±0.041		符合规定
	9	符合规定	符合规定	1.03±0.006	6.3±0.012	0.73±0.032		符合规定
	12	符合规定	符合规定	1.03±0.001	6.3±0.004	0.73±0.031		符合规定
	18	符合规定	符合规定	1.03±0.003	6.4±0.003	0.72±0.056		符合规定
20181017	0	符合规定	符合规定	1.04±0.002	6.2±0.002	0.69±0.025	1.83	符合规定
	3	符合规定	符合规定	1.03±0.003	6.4±0.004	0.70±0.012		符合规定
	6	符合规定	符合规定	1.03±0.001	6.3±0.006	0.73±0.026		符合规定
	9	符合规定	符合规定	1.03±0.001	6.4±0.068	0.71±0.048		符合规定
	12	符合规定	符合规定	1.04±0.005	6.3±0.012	0.72±0.006		符合规定
	18	符合规定	符合规定	1.03±0.004	6.3±0.025	0.70±0.063		符合规定
20181022	0	符合规定	符合规定	1.04±0.002	6.3±0.005	0.73±0.074	3.31	符合规定
	3	符合规定	符合规定	1.03±0.003	6.1±0.002	0.71±0.086		符合规定
	6	符合规定	符合规定	1.03±0.015	6.5±0.005	0.76±0.062		符合规定
	9	符合规定	符合规定	1.02±0.026	6.3±0.003	0.73±0.068		符合规定
	12	符合规定	符合规定	1.03±0.008	6.3±0.012	0.70±0.032		符合规定
	18	符合规定	符合规定	1.04±0.001	6.2±0.028	0.71±0.004		符合规定

日光下检视,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。见图1。检验结果见表1-3。

2.2.2 白及的鉴别 取复方苦参合剂 20 mL,用乙醚振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙醚液,挥至

1 mL,作为供试品溶液。另取白及对照药材 1 g,加 70%甲醇 20 mL,超声处理 30 min,过滤,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使之溶解,按样品同法制成对照药材溶液。

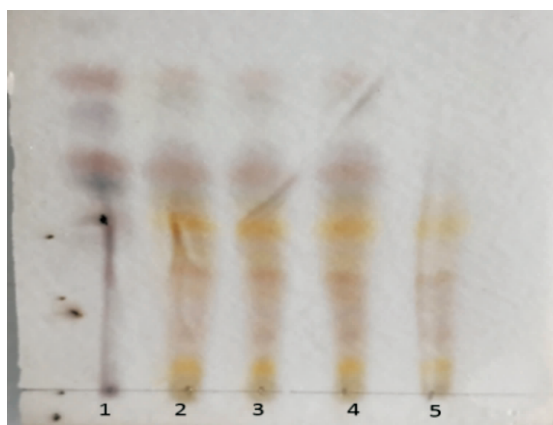
按照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2015



注:1.样品(批号:20181015);2.样品(批号:20181017);3.样品(批号:20181022);4.阴性对照;5.苦参对照药材(批号:121019-201708);6.苦参碱对照品(批号:110805-201709);7.槐定碱对照品(批号:110784-201706)

图1 复方苦参合剂苦参的TLC图

版四部通则 0502) 试验<sup>[11]</sup>, 吸取供试品溶液 5~10  $\mu\text{L}$ 、对照药材溶液 5  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲醇(6:2.5:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105  $^{\circ}\text{C}$  加热数分钟, 放置 30~60 min。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。见图 2。检验结果见表 1-3。



注:1.白及对照药材(批号:121262-201706);2.样品(批号:20181015);3.样品(批号:20181017);4.样品(批号:20181022);5.阴性对照品

图2 复方苦参合剂白及的TLC图

### 2.3 相对密度测定

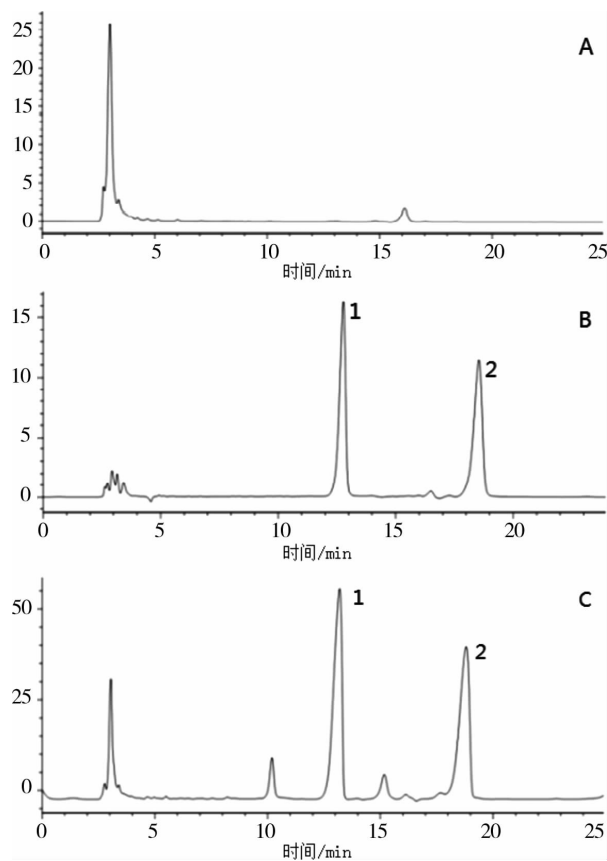
按《中华人民共和国药典》2015年版四部相对密度检查法(通则 0601)测定<sup>[11]</sup>。检验结果见表 1-3。

### 2.4 pH 值测定

按《中华人民共和国药典》2015年版四部 pH 检查法(通则 0631)测定<sup>[11]</sup>。检验结果见表 1-3。

### 2.5 含量测定

按本品质量标准“含量测定”项下方法测定<sup>[12-13]</sup>。本品每 1 mL 含苦参碱、氧化苦参碱总计, 不得少于 0.50 mg。见图 3。



注:A.苦参合剂阴性对照;B.苦参碱和氧化苦参碱对照品;C.复方苦参合剂。1.苦参碱;2.氧化苦参碱

图3 复方苦参合剂的HPLC色谱图

2.5.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(81:8:11)为流动相;柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为 220 nm。

2.5.2 对照品溶液的制备 取苦参碱、氧化苦参碱对照品适量,精密称定,以乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(81:8:11)混合溶液分别制成每 1 mL 含苦参碱 78.96  $\mu\text{g}$ 、氧化苦参碱 74.00  $\mu\text{g}$  的溶液,即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 精密量取离心(12 000 r/min, 10 min, 离心直径 10 cm)后的本品上清液 2 mL, 加浓氨溶液 0.2 mL、饱和氯化钠溶液 1.0 mL;用二氯甲烷振荡提取 4 次, 每次 5 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣用 5 mL 二氯甲烷溶解后上碱性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径 10 mm), 用二氯甲烷、二氯

甲烷-甲醇(7:3)各 20 mL 洗脱,收集两次的洗脱液,蒸干,残渣以流动相溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.5.4 测定方法 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别注入高效液相色谱仪,测定,即得。测定结果见表 1-3。

## 2.6 微生物限度检查

按《中华人民共和国药典》2015 年版四部微生物限度检查法检查<sup>[11]</sup>。结果见表 1-3。

## 2.7 影响因素试验

将复方苦参合剂(批号:20181112)置于高温(60  $^{\circ}\text{C}$ )、高湿(90% $\pm$ 5%)、强照射[(4 500 $\pm$ 500)lx]下 10 d 后,分别于第 0、5、10 天取样,检测性状、薄层鉴别、pH 值、相对密度、含量、微生物限度。

复方苦参合剂(批号:20181112)在不同时间点各指标差异无统计学意义( $P>0.05$ ),该药物在高温、高湿以及强光照射下稳定性较好。见表 1。

## 2.8 加速试验

采用钠钙玻璃输液瓶包装 3 批复方苦参合剂,于(40 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度(75% $\pm$ 5%)条件下贮藏 6 个月,分别于第 1、2、3、6 个月末取样,检测性状、相对密度、pH 值、微生物限度检查。

经检测,各项指标均合格,在不同时间点各指标差异无统计学意义( $P>0.05$ ),苦参碱、氧化苦参碱的含量稍有上升趋势,但变化趋势不明显,RSD 均小于 5.0%。见表 2、图 4。

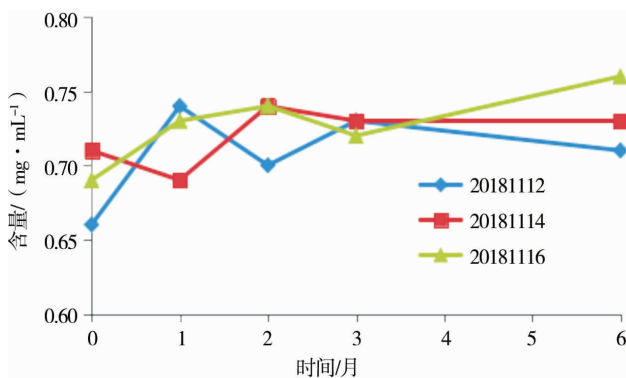


图 4 加速试验含量变化趋势

## 2.9 长期试验

采用钠钙玻璃输液瓶包装 3 批复方苦参合剂,

于室温下自然贮存 18 个月,分别于第 3、6、9、12、18 个月取样,检测性状、相对密度、pH 值、微生物限度检查。

各项检测指标均合格,在不同时间点差异无统计学意义( $P>0.05$ ),苦参碱、氧化苦参碱的含量 1~18 个月间变化趋势不明显,均在合格范围,RSD 均小于 5.0%。见表 3、图 5。

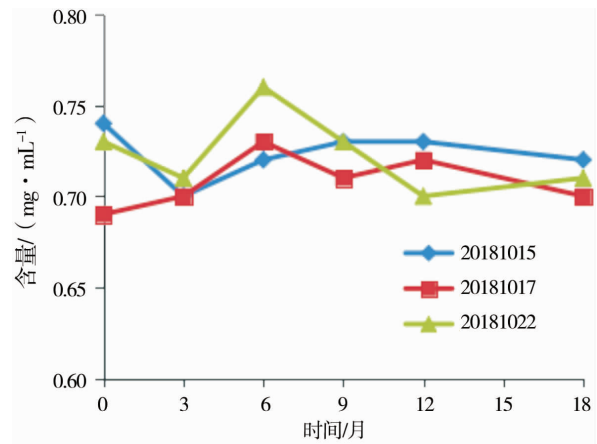


图 5 长期试验含量变化趋势

## 3 讨论

苦参为复方苦参合剂方中君药,现代药理研究<sup>[14]</sup>表明,苦参煎剂具有抑菌、抗炎、升高白细胞等功效;氧化苦参碱、苦参碱为苦参的主要成分,具有抑制体液免疫和调节细胞免疫的作用<sup>[15]</sup>,是方中主要药物活性成分,在加速试验中,其总量变化随着时间的延长而稍有上升,在长期试验中没有明显的变化,这些数据充分说明二者之间的相互转化,所以选择苦参碱及氧化苦参碱的总量为检测指标能更好地控制药物的质量。复方苦参合剂采用钠钙玻璃输液瓶包装,在高温(60  $^{\circ}\text{C}$ )、高湿(90% $\pm$ 5%)、强光[(4 500 $\pm$ 500)lx]照射下 10 d 后;在室温自然贮存 18 个月;于(40 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度(75% $\pm$ 5%)条件下贮藏 6 个月,按《中华人民共和国药典》2015 版四部合剂“通则”项下<sup>[11]</sup>检测均符合本品质量标准要求;而含量是合剂的主要检测项,故本实验将作为稳定性研究的关键检测指标,影响因素、加速稳定性、长期稳定性试验中的含量变化趋势平缓,RSD 均小于 5.0%。根据《湖北省医疗机构制剂注册管理实施细则》附件九“医疗机构制剂使用期限规定”,结合本品稳定性

试验研究结果, 暂定复方苦参合剂的有效期为 12 个月, 阴凉处保存。

### 参考文献

- [1] 徐 萌, 范 恒. 清热燥湿凉血方治疗溃疡性结肠炎 82 例临床分析[J]. 中西医结合研究, 2015, 7(2): 79-80.
- [2] 董亚兰, 范 恒. 复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎 102 例临床分析[J]. 中西医结合研究, 2016, 8(5): 248-250.
- [3] 范 恒, 庄 雄, 段雪云, 等. 复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎患者的治疗作用及其机制[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(23): 2429-2432.
- [4] 杨 佳, 范 恒. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎大鼠炎症反应和氧化应激的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3457-3461.
- [5] 周承志, 姜 楠, 周从辉, 等. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎模型大鼠的干预及作用机制研究[J]. 中国药师, 2016, 19(10): 1816-1820.
- [6] XU M, DUAN X Y, CHEN Q Y, et al. Effect of compound sophorae decoction on dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis in mice by regulating Th17/Treg cell balance [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 109: 2396-2408.
- [7] ZHOU P, FAN H, HU H, et al. Role of DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl2 signal transduction pathway and intervention effects of oxymatrine in ulcerative colitis[J]. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 2014, 34(6): 815-820.
- [8] FAN H, LIU X, ZHANG L, et al. Intervention effects of QRZS-LXF, a Chinese medicinal herb recipe, on the DOR- $\beta$ -arrestin1-Bcl2 signal transduction pathway in a rat model of ulcerative colitis [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 154(1): 88-97.
- [9] DENG S, TANG Q, DUAN X, et al. Uncovering the anti-cancer mechanism of compound sophorae decoction against ulcerative colitis-related colorectal cancer in mice[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019: 8128170.
- [10] ZHENG L, LAI Y L, LU W M, et al. Pinaverium reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a multicenter, randomized, controlled trial[J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2015, 13(7): 1285-1292.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 73, 77, 136, 140, 354-356.
- [12] 朱田密, 段雪云, 姜 楠, 等. 复方苦参汤的血清药物化学研究[J]. *中南药学*, 2016, 14(9): 944-947.
- [13] 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.
- [14] CHEN Q Y, DUAN X Y, FAN H, et al. Oxymatrine protects against DSS-induced colitis via inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 53: 149-157.
- [15] 王一帆, 范 恒. 氧化苦参碱调控 RhoA/ROCK 信号通路介导溃疡性结肠炎 E-cadherin 及 TGF- $\beta$  的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(6): 73-80.

(本文编辑 匡静之 周 旦)