

· 论著 ·

米诺生发搽剂的质量标准研究

岩林苹, 白玲玲, 黄婧, 王婷, 苏华, 廖欣 (南京军区南京总医院制剂科, 江苏南京 210002)

[摘要] 目的 完善米诺生发搽剂的质量标准, 以保证产品质量。方法 采用薄层色谱法、紫外-可见光谱法分别对制剂中的当归、赤芍、白鲜皮及米诺地尔进行定性鉴别; 采用一阶导数光谱法对制剂中的米诺地尔进行含量测定。结果 薄层色谱斑点清晰, 在与对照品或对照药材相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰; 紫外-可见光谱鉴别中, 米诺地尔在(230±3)、(262±3)、(286±3)nm 波长处有最大吸收峰; 一阶导数光谱法含量测定中, 米诺地尔在 6.2~18.6 μg/ml ($r=0.9997$) 范围内线性关系良好; 平均回收率为 99.4%, RSD 为 0.22%。结论 本方法操作简便, 准确度高, 重复性好, 能全面、有效地控制该制剂的质量。

[关键词] 米诺生发搽剂; 米诺地尔; 当归; 赤芍; 白鲜皮; 质量标准

[中图分类号] R93 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0343-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.015

Study on quality control of Minuo Hair Solution

Yan Linping, Bai Lingling, Huang Jing, Wang Ting, Su Hua, Liao Xin (Department of Preparation Division, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

[Abstract] **Objective** To improve the quality standard of Minuo Hair Solution and to ensure product quality. **Methods** Thin layer chromatography (TLC) and UV-visible spectroscopy (UV-Vis) method was used for the qualitative identification of *Angelica sinensis*, *Paeoniae Radix Rubra*, *Dictamni Cortex* and minoxidil respectively. The Quantitative determination of minoxidil was completed by first order derivative spectroscopy. **Results** The spots in TLC were clear without inference. And the same color spots appeared in the corresponding position of references and reference drugs. The UV-Vis spectral absorption of minoxidil were in (230±3), (262±3), (286±3) nm. The linear range of minoxidil was obtained between 6.2 and 18.6 μg/ml ($r=0.9997$). The average recovery was 99.4% (RSD=0.22%). **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, and can be effectively used to control the quality of Minuo Hair Solution.

[Key words] Minuo Hair Solution; minoxidil; *Angelica sinensis*; *Paeoniae Radix Rubra*; *Dictamni Cortex*; quality standard

米诺生发搽剂为南京军区南京总医院院内制剂[南制字(2011)F01036], 本品具有利湿清热、活血化瘀、生发固脱、促进毛发生长的作用。主要用于湿瘀所致的斑秃、脂溢性脱发。该制剂处方主要由米诺地尔、当归、赤芍、白鲜皮等组成。方中米诺地尔在治疗斑秃和男性脱发的临床报道很多^[1,2], 当归为补血、活血药, 赤芍和白鲜皮均具有清热功效, 故本方效果显著。有报道称, 大量使用米诺地尔会引起刺激性皮炎、非特异性过敏等不良反应^[3]。因此,

本实验建立了米诺地尔的含量测定方法, 对其含量进行控制; 并建立了方中起主要作用的当归、赤芍、白鲜皮的薄层鉴别及米诺地尔的紫外-可见光谱鉴别方法, 以期能够综合评价制剂的内在质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 WHF-203B 三用紫外分析仪; FA1604S 电子天平(上海天平仪器厂); HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); UV-1700 可见-紫外分光光度计(岛津仪器有限公司); FA1604S 电子天平(上海天平仪器厂), 以上仪器均检定合格; 实验所用玻璃量具均经过校验合格。

1.2 试剂 当归对照药材(批号: 120927-201315)、赤芍对照药材(批号: 121092-201003)、芍药苷对照品(批号: 110736-200732)、白鲜皮对照药材(批号: 120978-201105)均由中国药品生物制品检定所提

[基金项目] 全军医疗机构制剂标准提高科研专项课题重点项目 (No. 14ZJZ08)

[作者简介] 岩林苹, 大专, 药师, 研究方向: 医院制剂。E-mail: 128602889@qq.com

[通讯作者] 廖欣, 学士, 药师。(025)80860166; E-mail: lx870811@163.com

供;米诺地尔(批号:201310010,常州四药制药有限公司);当归、赤芍、侧柏叶、白鲜皮、生地、红花、干姜(批号:140501,均购自安徽沪昆中药饮片有限公司),薄层色谱用硅胶 G(青岛海洋化工有限公司);丙二醇(批号:121202,湖南尔康制药股份有限公司),米诺生发搽剂(批号:131017、140123、140430,规格:60 ml,医院自制),其余所用试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 当归的薄层鉴别 当归可改善血液循环,增加对发根的滋养。笔者对当归对照药材进行薄层鉴别。

2.1.1 供试品溶液 取米诺生发搽剂 60 ml,蒸去乙醇,残渣加水至 30 ml 使之溶解。用乙酸乙酯振摇提取 3 次,每次 15 ml,合并提取液,蒸干,残留物加石油醚(60~90℃)洗涤 3 次,每次 10 ml,合并洗涤液,蒸干,残渣用 1 ml 甲醇使之溶解,作为供试品溶液。

2.1.2 对照药材溶液 称取当归对照药材 0.5 g,加 75% 乙醇 60 ml,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸去乙醇,按“2.1.1”项下方法制成对照药材溶液。

2.1.3 阴性对照溶液 按处方制成不含当归的阴性样品,按“2.1.1”项下方法制成阴性对照溶液。

参照薄层色谱法^[4]实验,吸取上述 3 种溶液各 20 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下(365 nm)检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,且缺当归的阴性液在相同位置处无斑点。结果见图 1。

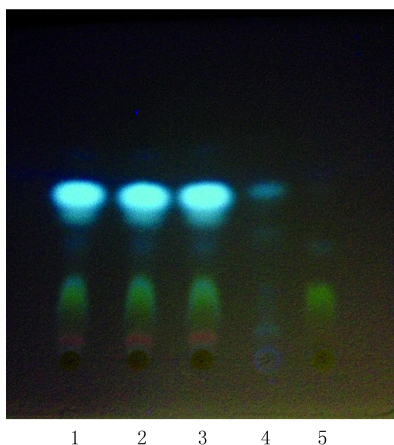


图 1 当归薄层色谱图

1~3. 供试品(批号:131017、140123、140430);4. 当归对照药材;5. 阴性对照

2.2 赤芍的薄层鉴别^[5,6] 赤芍具有清热凉血、散

瘀止痛、调节免疫、抑菌等作用。有效成分为芍药苷、芍药内脂苷、氧化芍药苷等多种苷类物质,其中,芍药苷为赤芍中含量较高的有效成分。以芍药苷作为观察指标进行薄层鉴别。

2.2.1 供试品溶液 取米诺生发搽剂 60 ml,蒸去乙醇,残渣加水至 30 ml 使之溶解,用乙醚振摇提取 2 次,每次 20 ml,弃去乙醚液,水层再用正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇提取液,用水洗涤 2 次,每次 20 ml,弃去水液,正丁醇提取液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使之溶解,作为供试品溶液。

2.2.2 对照品、对照药材溶液 取芍药苷对照品,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 芍药苷的溶液作为对照品溶液;取赤芍对照药材 0.5 g,加 75% 乙醇 60 ml,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸去乙醇,按“2.2.1”项下方法制成对照药材溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方制成不含赤芍的阴性样品,按“2.2.1”项下方法制成阴性对照溶液。

参照薄层色谱法^[4]实验,吸取上述 3 种溶液各 20 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105℃ 烘约 5 min 至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。结果见图 2。

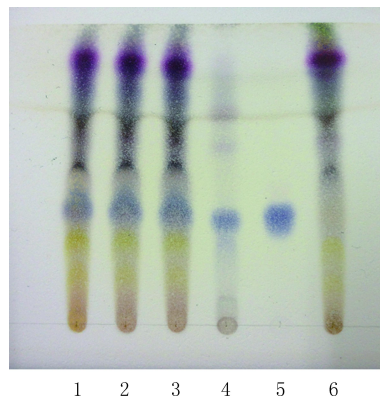


图 2 赤芍薄层色谱图

1~3. 供试品(批号:131017、140123、140430);4. 赤芍对照药材;
5. 芍药苷对照品;6. 阴性对照

2.3 白鲜皮的薄层鉴别 白鲜皮具有清热燥湿、祛风解毒、杀虫止痒的功效。栲酮和 β -谷甾醇是白鲜皮中含量较多的主要成分,具有一定的抑菌作用。对白鲜皮对照药材进行薄层鉴别。

2.3.1 供试品溶液 取本品 60 ml,蒸去乙醇,残渣加水至 30 ml 使之溶解,用三氯甲烷振摇提取 3 次,每次 20 ml,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 ml

使之溶解,作为供试品溶液。

2.3.2 对照药材溶液 取白鲜皮对照药材0.5 g,加75%乙醇60 ml,加热回流1 h,滤过,滤液蒸去乙醇,按“2.3.1”项下方法制成对照药材溶液。

2.3.3 阴性对照溶液 按处方制成不含白鲜皮的阴性样品,按“2.3.1”项下方法制成阴性对照溶液。

参照薄层色谱法^[4]实验,吸取上述3种溶液各20 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-环己烷-乙酸乙酯(3:3:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,105℃烘约5 min至斑点显色清晰。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。结果见图3。

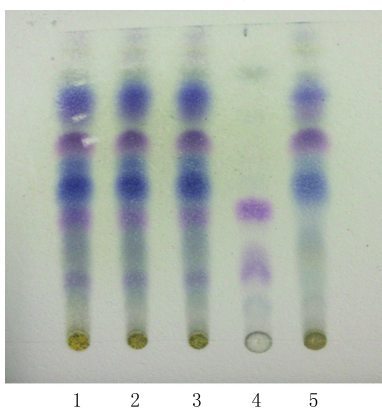


图3 白鲜皮薄层色谱图

1~3. 供试品(批号:131017、140123、140430);4. 白鲜皮对照药材;5. 阴性对照

2.4 米诺地尔的紫外鉴别

2.4.1 供试品溶液 取本品1 ml,置100 ml量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度。精密量取稀释液1 ml,置25 ml量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,作为供试品溶液。

2.4.2 对照品溶液 精密称取米诺地尔对照品15 mg,置100 ml量瓶中,加无水乙醇溶解至刻度,取稀释液1 ml,置25 ml的量瓶中,加无水乙醇溶解至刻度,作为米诺地尔对照品溶液。

2.4.3 阴性对照溶液 按处方比例制成米诺地尔阴性储备液,按“2.4.1”项下方法制成阴性对照溶液。

将供试品溶液、米诺地尔对照品溶液及阴性对照溶液按照分光光度法^[4],在(230 \pm 3)、(262 \pm 3)、(286 \pm 3) nm波长处进行测定。供试品溶液和对照品溶液在上述波长处测得有最大吸收峰,而阴性对照溶液在对应波长处几乎无吸收。结果见图4。

3 米诺地尔的含量测定^[7]

3.1 测定方法及波长选择 精密称取米诺地尔

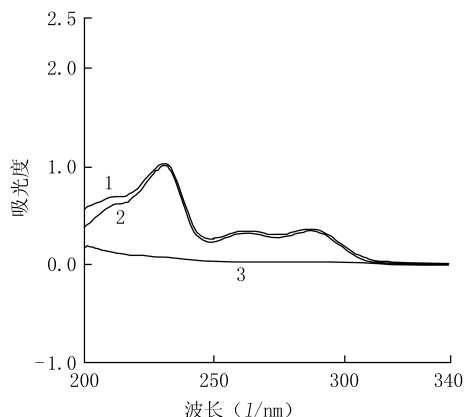


图4 米诺地尔的紫外鉴别图谱

1. 供试品溶液(批号:140123);2. 米诺地尔对照品溶液;3. 阴性对照品溶液

15.48 mg,置100 ml量瓶中,加无水乙醇溶解至刻度,摇匀,精密吸取上述储备液2 ml,置25 ml量瓶中,用无水乙醇溶解至刻度,摇匀,制得适宜浓度的对照品溶液;按处方比例称取药材,按特定制备工艺制备不加米诺地尔的阴性对照样品。精密称取本品1 ml,置100 ml量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀。精密吸取稀释液2 ml,置25 ml量瓶中,加无水乙醇至刻度,作为阴性样品溶液。将以上对照品溶液及阴性溶液分别以无水乙醇为空白对照,在200~340 nm范围内进行波长扫描,同时绘制零阶导数光谱和一阶导数光谱图(图5)。

由图5A可见,阴性对照溶液在200~340 nm范围内有紫外吸收,干扰米诺地尔吸收值的正常测定,故不能直接用紫外分光光度法测定。在一阶导数光谱图上,米诺地尔在298 nm处有振幅谷值,而阴性对照在此波长处的振幅值为0。因此,可选择298 nm作为测定波长,并以该波长一阶导数的振幅值(D)作为定量信息,计算米诺地尔的含量。

3.2 线性关系考察 精密称取米诺地尔1.548 mg,置100 ml量瓶中,加无水乙醇溶解至刻度,摇匀。精密量取上述米诺地尔储备液1、1.5、2.0、2.5、3.0 ml,分别置25 ml的量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀。以无水乙醇为空白对照,在298 nm波长处测定米诺地尔一阶导数光谱的峰值-零振幅值(D),以溶液浓度(C)为横坐标X,振幅值(D)为纵坐标Y,进行线性回归,结果见表1。回归方程为 $Y=0.0102X+0.0034$, $r=0.9998$ 。结果表明,米诺地尔在6.2~18.6 μ g/ml浓度范围内线性关系良好。

3.3 稳定性考察 取浓度为12.4 μ g/ml的米诺地尔标准液,分别于0、1、2、4、6、8、24 h按“3.2”项下方法绘制一阶导数光谱图,结果其峰形、峰值-零振

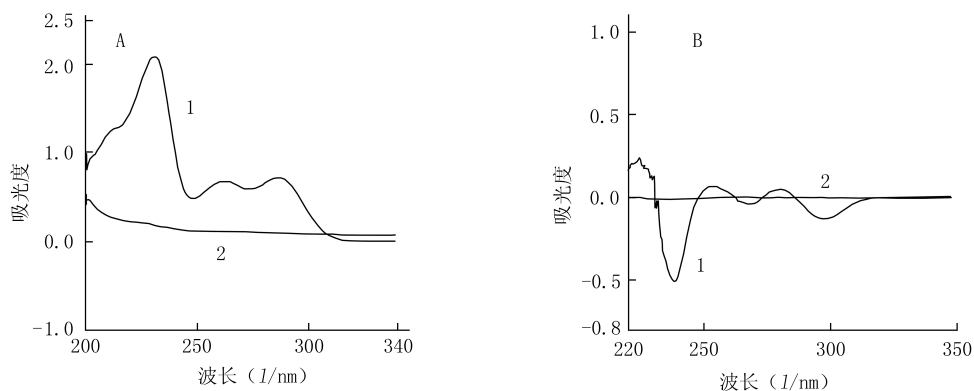


图5 零阶导数(A)、一阶导数(B)光谱图

1.米诺地尔对照品;2.阴性对照

表1 标准曲线测定结果

浓度 ($\rho_B/\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	零阶导数测定值 (吸光度 A)	一阶导数测定值 (振幅值 D)
6.192	0.204	-0.066
9.288	0.306	-0.098
12.384	0.414	-0.131
15.480	0.520	-0.162
18.576	0.614	-0.196

幅的位置和幅度几乎没有变化,说明该方法稳定,能够满足测定的需要。

3.4 精密度试验 分别吸取米诺地尔标准液($12.4\mu\text{g}/\text{ml}$)5份,在298 nm波长处测定米诺地尔一阶导数光谱的峰值-零振幅值,结果振幅值D无明显变化。

3.5 加样回收率试验 精密称取已知浓度的样品0.5 ml,共9份,分别置100 ml量瓶中,分别加入“3.2”项下米诺地尔储备液各3、5、7 ml,加无水乙醇溶解至刻度,摇匀,制成浓度分别相当于标示量的80%、100%、120%的米诺地尔供试品溶液。在200~340 nm范围内,以无水乙醇为空白对照,在298 nm波长处测定,计算加样回收率,实验结果见表2。

表2 米诺地尔回收率测定结果

浓度	样品量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
80%	7.635	4.516	12.083	98.5	98.8	0.25
	7.635	4.516	12.097	98.8		
	7.635	4.516	12.106	99.0		
100%	7.635	7.527	15.268	101.4	101.2	0.20
	7.635	7.527	15.240	101.0		
	7.635	7.527	15.255	101.2		
120%	7.635	10.538	17.966	98.0	98.2	0.21
	7.635	10.538	18.001	98.4		
	7.635	10.538	17.972	98.1		

3.6 样品测定 精密量取本品1 ml,置100 ml量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀。精密量取稀释液2 ml,置25 ml量瓶中,加无水乙醇至刻度,作为供试品溶液。在298 nm处测定一阶导数振幅值D,根据标准曲线,以及本制剂中米诺地尔的标示量为15 mg/ml,计算米诺地尔的含量。结果见表3。

表3 米诺地尔样品测定结果

批号	测得值(标示量%)			平均值 (%)	RSD (%)
131017	102.4	102.2	102.6	102.4	0.20
140123	103.9	103.6	103.4	105.4	0.24
140430	100.0	100.1	99.8	102.1	0.15

4 讨论

4.1 赤芍的薄层鉴别 原标准^[4]以赤芍药材为对照,经验证发现赤芍的鉴别存在阴性干扰,并且R_f值过高,供试品色谱分离效果较差。本实验以赤芍中主要活性成分芍药苷为对照,使得鉴别实验更为明确。优化提取方法,利用乙醚除杂正丁醇萃取法后,斑点更为清晰,且不存在阴性干扰。对于R_f值过高的问题,展开剂优选三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2),在此系统下展开,斑点分离度良好,且R_f值在标准范围内。

4.2 白鲜皮的薄层鉴别 本实验增加对白鲜皮的薄层鉴别,白鲜皮主要含有内酯类、生物碱等^[8],极性较小,因此选择三氯甲烷提取,使有效成分得以富集。分别比较3种展开剂,在甲苯-环己烷-乙酸乙酯(3:3:3)下展开,斑点分离度最佳,且阴性无干扰。

4.3 其他 常用的药物定量方法有HPLC法和UV法^[9],HPLC法灵敏度高、专属性好,但成本高且操作复杂;常规的UV法只适用于辅料无干扰条

件下测定药物含量。本实验测定米诺生发搽剂中米诺地尔的含量时,辅料对米诺地尔的测定存在严重干扰,故采用一阶导数光谱峰谷法成功消除了辅料的干扰,该方法准确性高,精密度和回收率均符合要求。不仅可以用于测定米诺生发搽剂中米诺地尔的含量,也可为米诺地尔其他制剂分析提供参考。

【参考文献】

[1] 曹蕾,王磊,杜旭峰,等. 雄激素性秃发治疗研究进展[J]. 临床皮肤科杂志, 2015, 44(2):129-132.
[2] 叶艳婷,曹慧,李水凤,等. 5%米诺地尔治疗33例女性型脱发治疗前后的临床和皮肤镜检查[J]. 临床皮肤科杂志, 2014, 43(12):739-741.
[3] 邓伟. 外用米诺地尔治疗女性雄激素性脱发的系统评价

[J]. 四川医学, 2012, 33(2):261-264.
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 附录VI B, 附录VA.
[5] 刘宁. 消栓口服液的薄层色谱法鉴别研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11):1937-1939.
[6] 张晓明,何晓英. 冠心康颗粒质量标准研究[J]. 中国药事, 2010, 24(4):380-382.
[7] 孟德胜,傅若秋,吴畏. 5%米诺地尔搽剂的制备及稳定性[J]. 药学服务与研究, 2010, 10(3):189-190.
[8] 朱利霞,张张扬,杨春云,等. 白鲜皮药材的质量标准研究[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1):155-159.
[9] 谢苗,蓝海. 天然药物分析方法的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(29):10059-10062, 10065.

[收稿日期] 2015-08-23 [修回日期] 2016-02-26
[本文编辑] 李睿旻

(上接第326页)

表8 豚鼠 Buehler 实验在观察时间内出现红斑/水肿的积分评价均值

组别	第0天		第7天		第14天		第28天	
	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
空白对照组	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
阳性对照组	0.7**/0	0.4/0	0.7**/0	0.5/0	0.6*/0	0.3/0	1.4**/1.3**	1.2**/1.2**
给药组	0.8**/0	0.5*/0	0.6**/0	0.4/0	0.4/0	0.2/0	0/0	0/0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与空白对照组比较

本实验结果表明,吡罗美辛乳剂多次给药对兔皮肤有轻微刺激性,但停药14d后可恢复。非甾体抗炎药的作用机制主要是通过抑制前列腺素(PGs)环氧化酶,阻止花生四烯酸转化为PGs而产生抗炎、止痛和解热作用^[9]。环氧化酶有2种同工酶,即COX-1和COX-2,其中COX-2受外源物诱导后可促进组织大量合成致炎性PGs,引起组织的炎症反应。吡罗美辛属于COX-1抑制剂^[9],多次给予吡罗美辛导致兔皮肤组织中COX-1减少,是否会造成COX-2相对增多,进而引发了皮肤组织炎症反应,尚需进一步研究其作用机制。实验结果提示吡罗美辛临床用药疗程不宜过长,并且需重点观察皮肤刺激性。

豚鼠 Buehler 实验应以产生轻微刺激性的剂量作为致敏剂量,以不产生刺激性的最高剂量作为激发剂量^[4,6],预实验中,每只豚鼠给予吡罗美辛0.2、0.3、0.4、0.5 g,结果表明0.5 g可产生轻微的红斑,0.2~0.4 g对豚鼠皮肤均无刺激性,故实验选择0.5 g作为豚鼠 Buehler 实验的致敏剂量,0.4 g作为激发剂量。实验结果为阴性,表明吡罗美辛乳剂不会引起豚鼠的皮肤过敏反应,为其临床安全使用提供了支持。

【参考文献】

[1] Mozafari MR, Omri A. Importance of divalent cations in nano-lipoplex gene delivery[J]. J Pharm Sci, 2007, 96(8): 1955-1966.
[2] Chow TH, Lin YY, Hwang JJ, et al. Diagnostic and therapeutic evaluation of 111 in-vinorelbine-liposomes in a human colorectal carcinoma HT-29/luc-bearing animal model[J]. Nucl Med Biol, 2008, 35(5): 623-634.
[3] 潘菽浪. 用复方吡罗美辛酊治疗面部化妆品接触性皮炎[J]. 贵阳医学院学报, 2005, 30(3): 266
[4] 光红梅,王庆利,王海学. 解读《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》[J]. 中国新药与临床杂志, 2015, 34(9): 700-702
[5] 陈小平,王志旺,刘彩民,等. 荣骨定痛膏皮肤刺激性与皮肤过敏性实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2015, 32(3):7-9.
[6] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2002.
[7] 路绪文,康才,苏芳. 复方吡罗美辛搽剂的研制与临床疗效观察[J]. 中国药业, 2002, 11(7): 60-61.
[8] 李艳春,马恩龙,王敏伟. 4%与1%吡罗美辛乳膏的镇痛抗炎作用比较[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(10): 626-627.
[9] 王海为,李剑勇,杨亚军,等. 非甾体抗炎药物研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(1):77-80.

[收稿日期] 2015-01-21 [修回日期] 2016-03-04
[本文编辑] 李睿旻