

熊胆药物牙膏中熊胆粉的检验方法研究

王志海

瑞鹤药业有限公司 云南大理

【摘要】开展对熊胆药物牙膏中有效药用成分熊胆粉检测方法的研究,通过参照熊胆粉含量测定的方法,使用高效液相色谱法进行熊胆药物牙膏的定量检测方法试验和参照熊胆粉鉴别的方法,使用薄层色谱法进行熊胆药物牙膏的定性检测方法试验。最终确定熊胆药物牙膏中熊胆粉的检验方法,以规范产品质量符合特定质量标准要求。

【关键词】熊胆粉; 定量检测; 定性检测

Study on the test method of bear bile powder in bear bile medicated toothpaste

Zhihai Wang

Yunnan Dali Ruihe Pharmaceutical Co., Ltd. Yunnan Dali

【Abstract】 Carry out the research on the detection method of bear bile powder, the effective pharmaceutical component in bear bile medicated toothpaste, by referring to the content of bear bile powder. The quantitative detection method test of bear bile medicated toothpaste was carried out by high performance liquid chromatography and the qualitative detection method test of bear bile medicated toothpaste was carried out by thin layer chromatography with reference to the identification method of bear bile powder. Finally, the test method of bear gall powder in bear gall medicated toothpaste was determined to standardize the product quality to meet the requirements of specific quality standards.

【Keywords】 bear bile powder, quantitative detection, qualitative detection

前言

随着我国牙膏制造业的飞速发展,市场日趋完善,琳琅满目的牙膏制品遍布全国各地,产品质量参差不齐^[1-2]。云南大理瑞品金阁药业有限公司经过三十多年艰苦创业,现发展为集维西母系黑熊驯养、繁殖、民族制药、生物技术服务为一体的高新技术民营企业。凭借“云南省高新技术企业”的科技研发优势,成功研发出“熊胆药物牙膏”产品。现由“云南大理瑞品金阁药业有限公司”组织开展对熊胆药物牙膏中熊胆粉的检验方法的研究,以规范产品的质量,充分体现其产品特色,满足广大消费者的需求。

1 研究背景

“熊胆药物牙膏”是利用磨擦剂、保湿剂、增稠剂、发泡剂、芳香剂、水、熊胆粉和其他添加剂等,经科学配方研制而成的口腔护理用品^[3-4]。

熊胆以其珍贵、稀有、药效独特而闻名,多用

于治疗肝、胆、眼、口腔等部位疾病,其清热、去火、消炎、止痛的效果显著^[5-6]。产品中使用的原料熊胆粉系参照《濒危野生动植物物种和国际贸易公约》英文简称(CITES)的有关条款及云南省林业厅颁发的《云南省林业和草原关于进一步加强非食用野生动物人工繁育管理的通知》等证书,从公司下属的大理珍稀动物养殖场驯养繁殖的熊科 ursidas 动物亚洲属维西母系黑熊胆囊中提取的新鲜熊胆汁通过过滤、精制、干燥、灭菌等生产工艺而得。

2 研究目标

确定熊胆药物牙膏中熊胆粉添加物定量或者定性的检测方法,以规范产品的质量,保证产品质量。

3 研究方法

结合熊胆粉质量标准选择对熊胆药物牙膏进行定量检测和定性检测方法的研究,采用常规的高效液相色谱法和薄层色谱法进行实验操作^[7]。

4 实验要求

实验地点：云南大理瑞品金阁药业有限公司质量技术部 QC 室

实验时间：2015 年 12 月 3 日至 2015 年 12 月 10 日

实验仪器和设备：精密天平、LC98 I 型高效液相色谱仪、进样器、毛细点

样管、紫外分光光度计、蒸汽灭菌器、控温电炉、分液漏斗、蒸发皿等。

5 研究流程图

定量检测方法试验：

系统适用性试验→对照品溶液制备→供试品溶液制备和测定→取高效液相色谱所得图谱，以干燥品计算，7β-二羟基胆烷酰-N-牛磺酸的含量

定性检测方法实验：

(1) 系统适用性试验→对照品溶液制备→供试品溶液制备→对照品和供试品溶液测定→取高效液相色谱所得图谱观察，供试品与对照品主峰保留时间是否一致

(2) 对照品溶液制备→供试品溶液制备→薄层色谱法→供试品色谱中在与对照品相应位置上，是否显相同颜色的斑点

6 研究过程与结果

6.1 参照熊胆粉含量测定的方法，进行熊胆药物牙膏的定量检测方法试验，照薄板层析法色谱（《中国药典》2020 年版^[8]）试验。

系统试验：以 ODS 为填料；CH₃OH-NaH₂PO₄·2H₂O 溶液为流动相在此期间磷酸调节值为 4.5，波长长度为 210nm。理论板数按 TUDCA 素质不低于 2500。

对照品溶液的制备：取经氧化磷容器中减压干至恒重 TUDCA 对照品适量，精密称定，加甲醇使溶解并定量稀释制成 1:1 溶液，即得。

供试品溶液的制备与测定：

①取本品 1g，随后进行称量，将其放置于 10ml 的实践器皿中，加 CH₃OH 将其稀释溶解，均匀摇晃而后滤过，后将初滤液进行清理，收集续滤液作为观察对象。随后对对照溶液与供试溶液 7ul，进行照薄板层析，测定，即得。

②取本品 10g，精密称定，置 100ml 容量瓶中，加 CH₃OH 使溶解稀释至刻度，摇匀，滤过，弃去初

滤液，收集续滤液作为供试品溶液。精密吸取对照品溶液 10ul 与供试品溶液 5—10ul（视含量高低），注入液相色谱仪，测定，即得。

实验结果：照薄板层析法观察对象和对比对象相对比时间不一致，且供试品主峰与其它杂质峰不好分离，分离度、峰面积、理论塔板数均达不到要求，重现性较差，不符合要求。

6.2 参照熊胆粉鉴别的方法，进行熊胆药物牙膏的定性检测方法。

(1) 照薄板层析法色谱（《中国药典》2020 年版^[8]）试验。

系统适用性试验：以 ODS 胶为填料；CH₃OH-NaH₂PO₄·2H₂O 溶液为流动相，酸调节值为 4.5，波长长度为 210nm。理论板数按 TUDCA 素质不低于 2500。

对照品溶液的制备：取 P₂O₅ 容器中减压干至恒重 TUDCA 对照品适量，精密称定，加 CH₃OH 使溶解并定量稀释制成 1:1 的溶液，即得。

供试品溶液的制备与测定：

①取本品 1g，精密称定，置 10ml 容量瓶中，加 CH₃OH 使溶解稀释至刻度，摇匀，滤过，弃去初滤液，收集续滤液作为供试品溶液，收集续滤液作为供试品溶液。精密吸取对照品溶液 10ul 与供试品溶液 5—10ul（视含量高低），注入液相色谱仪，测定，即得。

②将本品取出 10g，随后进行称量检测，随机将其放置于 100ml 瓶中，配以 CH₃OH 将溶液进行稀释，并均匀摇晃过滤，随即去除初滤液，并将续滤液作为观察对象。随即取得对照试验品溶液 10ul，与供试品溶液 7ul，注入液相色谱仪，测定，即得。

实验结果：薄层分析中色谱图实验品与对照品保留时间不具有 consistency，且供试品主峰与其它杂质峰不好分离，舍弃高效液相色谱法用于对熊胆药物牙膏定量检测和定性检测试验方法。

(2) 参照熊胆粉鉴别的方法，薄板层析法参照 2020 年版《中华人民共和国药典》试验。

供试品和对照品溶液的制备：取本品内容物 10g，加甲醇 30ml，搅拌成细小颗粒状物，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干；残渣加 10%氢氧化钠溶液 10ml，超声处理使之溶解；在 120℃ 下加热水

解 2 小时, 放冷; 加氢氯酸调节 PH 值为 3 左右, 用醋酸乙酯振动摇晃, 而后提取 2 次即可, 每次提取约 20ml, 后将提取溶液进行充分融合, 在将其中水分蒸干; 残渣加 C_2H_6O 1ml 进行溶解, 作为供试品溶液。另取熊去氧胆酸对照品和鹅去氧胆酸对照品, 分别加 C_2H_6O 制成 1ml 配 0.5mg 溶剂, 将其作为对照样本。

检验方法: 吸取对照品溶液 1 μ l 和供试品溶液 3~8 μ l, 分别点于同一高纯度薄层层析硅胶薄层板上; 以异辛烷-乙醚-正丁醇-冰醋酸-水 (10: 5: 3: 5: 1) 的上层溶液 (临用现配) 为展开剂, 平摊; 提取, 成干燥状, 在其中加以硫酸乙醇溶液, 随机将其温度提升 105 $^{\circ}C$, 待其色泽为斑点显色, 置紫外灯下检验。试验品色谱, 同对照品色谱均应处于相应的位置, 所呈现的颜色均为相同。

实验结果:

①在点样时供试品溶液取样量分别取用了: 3 μ l、5 μ l、8 μ l、10 μ l 四个不同的点样量均点于同一高纯度薄层层析硅胶薄层板上, 通过三组平行试验, 根据观察色谱图效果, 确定最佳点样量为 8 μ l;

②薄板层析法色谱中, 其与参照色谱均处于相同位置。显相同颜色 (熊去氧胆酸: 紫黄色; 鹅去氧胆酸: 紫色) 的斑点。实验结果符合规定, 故采用薄层色谱法对熊胆药物牙膏中熊胆粉的定性检测能较好达到研究目的, 能作为对熊胆药物牙膏产品质量标准的检验方法。

7 研究结论

通过参照熊胆粉含量测定的方法, 使用高效液相色谱法进行熊胆药物牙膏的定量检测方法试验和参照熊胆粉鉴别的方法, 根据实验结果, 最终确定了采用薄层色谱法作为对熊胆药物牙膏中熊胆粉定性检测的试验方法, 并作为其指导企业组织生产、检验、贸易和仲裁的依据。

熊胆药物牙膏中熊胆粉的定性检验方法

(1) 供试品和对照品溶液的制备

将本品取出约 10g, 并配以 25ml 甲醇, 搅拌成细小颗粒状物, 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干; 残渣加 10% 氢氧化钠溶液 10ml, 超声处理使之溶解; 在 120 $^{\circ}C$ 下加热水解 2 小时, 放冷; 同时配以盐酸指数 3, 用醋酸乙酯在振动摇晃后提取 2 次, 每份含量月 2ml, 将其合并后, 提出蒸干; 残渣加乙醇

1ml 使溶解, 可但作为实验对象。

另取熊去氧胆酸对照品和鹅去氧胆酸对照品, 分别加乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液。

(2) 检验方法

照薄板层析法 (《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取对照品溶液 1 μ l 和供试品溶液 3~8 μ l, 分别滴在相同硅胶板上; 以 2,4-三甲基戊烷-乙氧基乙烷- $CH_3CH_2CH_2CH_2OH-C_2H_5COOH$ -水, 依照 10、5、3、5、1 配比序列的临用现配为展开剂, 平摊; 提取, 成干燥状, 在其中加以硫酸乙醇溶液, 随机将其温度提升 105 $^{\circ}C$, 待其色泽为斑点显色, 放置于紫外灯下下检视。

(3) 检验结果

在两种色谱相同位置下, 供试品色谱中应与对照色谱显现斑点颜色保持一致。

8 研究收获

我公司质量技术部通过对熊胆药物牙膏中熊胆粉定性检测的试验方法进行反复验证和确认, 最终将其编制为“瑞鹤熊胆牙膏”企业标准中熊胆粉定性检测的试验方法, 并于 2016 年 3 月 18 日顺利通过大理市质量技术监督局标准化科的审查并予以备案批件。

后将连续生产的两个批次产品分别送交“国家轻工业牙膏蜡制品质量监督检测中心”和“云南省产品质量监督检验研究院”按照企业标准进行全项型式检验并出具合格检验报告书 (报告书号: GQYLJ20151720 和 HN201502737), 从而进一步验证了熊胆药物牙膏中熊胆粉定性检测的试验方法的可行性和科学性, 使我公司产品质量有所保证, 确保本单位的合法权益以及消费者实际应用价值。

参考文献

- [1] 曹家鑫, 焦玉峰. 胶体理论与牙膏生产[M]. 轻工业出版社, 1981.
- [2] 杨俊莉, 钟林江, 雷阳, 等. 基于化学成分差异的不同干燥方式熊胆粉镇痛作用研究[J]. 中草药, 2021, 52(18): 5569-5580.
- [3] 《熊胆粉》WS₃-09 (B-09) -96 (Z), 中国卫生部颁布, 1995.1.
- [4] 王家良, 马宏杰, 冯磊, 等. 熊胆开明片对细菌性角膜炎肝经

- 郁热型干预作用研究[J].实用中医药杂志,2020,36(12):1522-1524.
- [5] 中华人民共和国国家标准《牙膏》(GB 8372), 国家轻工业部, 2008.3.
- [6] 赵远,贾慧建,宋顺佳,等.真伪熊胆粉物种基源分子生物学鉴定方法的建立及评价[J].吉林大学学报(医学版),2022,48(03):801-808.
- [7] 《中国药品检验标准操作规范》, 中国医药科技出版社, 2015.6.
- [8] 《中华人民共和国药典》, 中国医药科技出版社, 2015.6.第一部附录

收稿日期: 2022年8月26日

出刊日期: 2022年10月8日

引用本文: 王志海, 熊胆药物牙膏中熊胆粉的检验方法研究[J]. 国际中医药研究, 2022, 2(3):26-29.
DOI: 10.12208/j.ircm.20220052

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网(CNKI Scholar)、万方数据(WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS