

高效薄层色谱法检测黄藤素中掺杂的黄连素

云南师范大学化学系(昆明 650092) 郑 萍* 谢笑天 李国宝
云南省药品检验所 范亚刚

摘 要 采用高效薄层预制板,用双向展开薄层色谱法分离检测黄藤素中掺杂的人工合成黄连素,在波长 $\lambda=365\text{ nm}$ 下荧光定位,用薄层扫描法测定其含量。此法还可测定黄藤素中巴马汀与药根碱的含量,方法简便、快速、准确、重现性好。
关键词 HPTLC 黄藤素 黄连素

从防己科植物黄藤中提取出来的黄藤素,具有消炎、解热、解毒、利尿的作用。其化学成分主要是巴马汀及少量药根碱,微量的黄藤内酯及伪非洲防己胺碱等。一些药厂收购黄藤提取粗品(约 40%),经精制后作为生产黄藤素注射液的原料。在收购过程中,发现有掺杂人工合成黄连素,后者价格较便宜。黄藤素与黄连素均为季铵衍生物,二者的作用与用途^[1~3]见表 1。黄藤素与黄连素的临床应用对症不同,如在天然植物提取的黄藤素中掺进大量黄连素,会使该药的疗效降低,不能对症治疗,从而延误患者的病情。另外,由于盐酸黄连素溶解度甚小,在黄藤素注射液的

制剂工艺中不能完全溶解,给生产中的精制及制剂工艺带来困难和不稳定,造成经济损失,降低药品质量,因此检测黄藤素中掺杂的黄连素,并测定含量,对于保证黄藤素的临床应用疗效及药品质量是必须的。由于黄连素的颜色、化学性质、紫外及可见光谱等与巴马汀相似,难以用常规化学法检测。我们采用双向薄层色谱展开系统检测黄藤素中掺杂的黄连素,用薄层光密度扫描法测定其含量,同时测定巴马汀与药根碱的含量,获得满意结果,为药厂收购黄藤素粗品及精制工艺有一个正确的评价方法。

表 1 黄藤素与黄连素性质用途

药物	黄藤素(巴马汀)	黄连素
主要抗菌作用	对金黄色葡萄球菌、大小孢子菌及白色念珠菌的抑菌作用强。	对溶血性链球菌、脑膜炎球菌、霍乱杆菌、炭疽杆菌、枯草杆菌等的抑菌作用强。
临床应用	清热解毒,具有增强白细胞吞噬能力的作用。用于妇科炎症、菌痢、肠炎、呼吸道及泌尿道炎、外科感染、眼结膜炎等疾患。	用于治疗细菌性痢疾、伤寒、肺结核、流行性脑脊髓膜炎、肺脓肿、急性扁桃腺炎、上颌窦炎、口腔颌面部炎等。

1 仪器与试药

CS-9000 型双波长薄层扫描仪及紫外灯检出仪(日本岛津),定量毛细管(美国),高效硅胶预制板(青岛海洋化工厂分厂),所用试药、试剂均为分析纯,双底层层析缸(100 mm×100 mm),盐酸巴马汀对照品、盐酸药根碱

对照品、盐酸黄连素对照品由中国药品生物制品检定所提供,黄藤素精品由昆明制药股份有限公司提供。

2 实验条件与结果

2.1 色谱条件

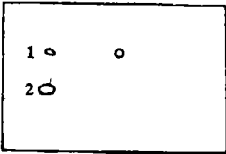
2.1.1 板层条件:采用青岛海洋化工厂生产

* Address: Zheng Ping, Departmen of Chemistry Yunnan Normal University, Kunming

的高效硅胶 G 预制板,层析效果好,斑点圆整而不扩散。

2.1.2 展开系统:曾用多种单向展开系统,无法将巴马汀、药根碱与黄连素同时完全分离。故采用双向展开系统,首先用碱性展开剂(1)甲醇-氨水-水(8:1:1),展距 5cm,在 a 方向上点药根碱对照品及样品,药根碱与巴马汀及黄连素完全分离,见图 1,取出薄层板,此时可扫描测定药根碱的含量,然后于 100℃ 下干燥此薄层板 20 min,转 90°角后,分别在 b 方向点上巴马汀及黄连素对照品,再用酸性展开剂(2)醋酸乙酯-甲酸(9:3)作二次展开,展距 9 cm,见图 2,巴马汀与黄连素良好分离,可分别扫描测定含量。

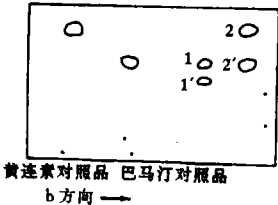
2.1.3 显色定位方法:在碱性条件下,药根碱为棕色,黄连素与巴马汀为黄色,而在酸性条件下,三者均为黄色。同时,在 $\lambda=365\text{ nm}$ 的紫外灯下药根碱发弱的暗黄色荧光,巴马汀与黄连素发黄绿色荧光,故薄层展开后,在紫外灯下定性定



样品 药根碱对照品
a 方向——

图 1 第一次展开图谱

1-药根碱,棕色斑点
2-黄连素与巴马汀,黄色斑点



黄连素对照品 巴马汀对照品
b 方向——

图 2 第二次展开图谱

1、1'-药根碱对照品与样品斑点 2'-样品中的巴马汀 2-样品中的黄连素

位,再进行定量扫描测定。

2.2 扫描条件:扫描方式,单波长反射法锯齿扫描,检测波长 $\lambda_s=340\text{ nm}$,光束狭缝 $0.4\text{ mm}\times 0.4\text{ mm}$,振幅 10 mm ,线性化器: $S_x=3$,背景校正 ON,检测信号峰面积。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备,精密称取 3 种

对照品盐酸盐适量,用无水乙醇配成盐酸巴马汀 0.8 mg/mL ,盐酸药根碱 0.5 mg/mL ,盐酸黄连素 0.4 mg/mL 的溶液。

2.3.2 供试品溶液制备:精密称取黄藤素粗品 0.0611 g ,置 25 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解、定容、过滤,取滤液点样测定。

2.4 线性关系考察:分别吸取 3 种物质的对照品溶液 $0.5、1、2、3、4\text{ }\mu\text{L}$,各点于 3 块高效薄层板上,药根碱用展开剂(1),巴马汀与黄连素用展开剂(2)分别展开, $\lambda=365\text{ nm}$ 紫外灯下定位,扫描测定,以各斑点峰面积测定值对点样浓度(μg)作直线回归,结果见表 2。

表 2 药根碱、巴马汀、黄连素的线性方程

对照品	回归方程	线性范围(μg)	r
巴马汀	$Y=8409293.6X+0.0058$	$0.4\sim 3.2$	0.9997
黄连素	$Y=8761077.7X-0.0138$	$0.13\sim 1.04$	0.9995
药根碱	$Y=7753077.4X+0.0148$	$0.13\sim 1.00$	0.9993

2.5 回收率试验

2.5.1 加料回收率:取已测定含量的黄藤素粗品,分别精密加入一定量的黄连素、药根碱、巴马汀对照品,依法测定,黄连素回收率为 $102.35\%(n=3)$, $RSD=2.1\%$,巴马汀的回收率为 $98.74\%(n=3)$, $RSD=2.0\%$,药根碱的回收率为 $96.52\%(n=3)$, $RSD=2.8\%$ 。

2.5.2 黄连素空白回收率试验:取未掺杂黄连素的黄藤素粗品,再精密加入一定量的黄连素对照品,依法测定,结果黄连素的平均回收率为 101.90% , RSD 为 $1.8\%(n=4)$ 。

2.6 样品测定:取黄藤素粗品 5 批,每一批样品在平行的两块薄层板上依法测定,取测定平均值结果为结果,见表 3。化学法⁽⁴⁾测定上述

表 3 样品测定结果($n=2$)

批号	药根碱 (mg/100mg)	RSD (%)	巴马汀 (mg/100mg)	RSD (%)	黄连素 (mg/100mg)	RSD (%)
1	2.83	2.8	40.23	1.7	未检出	—
2	1.58	3.1	19.72	2.5	16.01	1.6
3	1.84	3.7	21.05	1.6	22.57	1.9
4	2.76	2.7	40.57	2.1	未检出	—
5	1.90	3.0	18.42	2.7	20.11	1.8

5 批样品,结果以巴马汀盐酸盐计算,与薄层法测定结果比较,见表 4,化学测定法专属性差,不能鉴别并测出掺杂的黄连素。

表 4 二种测定巴马汀方法结果

批号	化学法含量(%)	薄层法含量(%)
1	42.79	40.23
2	38.42	19.22
3	41.50	21.05
4	43.67	40.57
5	39.22	20.42

2.7 精密度试验:分别精密吸取相同量的黄连素、巴马汀、药根碱的对照品溶液,各点于 3 块薄层板上,按上述色谱条件测定峰面积,再精密吸取 3 种相同量的对照品溶液分别点于不同的薄层板上,按上述色谱条件测定峰面积,结果见表 5。

表 5 黄连素等的同板与异板精密度(n=5)

样品	同板峰面积 A×10 ⁴	RSD %	异板峰面积 A×10 ⁴	RSD (%)
黄连素	6.01	2.6	5.76	3.2
巴马汀	10.28	2.1	10.54	2.8
药根碱	8.94	1.9	9.01	2.4

2.8 稳定性考察:对展开后的黄连素等的斑点每隔 0.5 h 扫描测定一次,结果在 0.5~8 h 内结果稳定,其相对标准偏差 RSD 分别为 0.9%、0.71%、0.94%,(n=3)。

3 讨论

3.1 由于黄连素与巴马汀及药根碱的化学性质相似,很难用一次展开系统将三者同时分离,在酸性展开剂中,药根碱与黄连素无法

完全分开,在碱性展开剂中,巴马汀与黄连素不能完全分离,最后采用双向展开法,在高效薄层板上,不经显色,即可定性、定量测定,取得了满意的结果。

3.2 由于层析后的薄层板不需要显色,板子背景干净,薄层扫描背景噪音平滑,经比较,采用双波长扫描方式与单波长扫描方式,基线平滑度一致,故采用单波长扫描方式即可满足分析要求。

3.3 黄连素、巴马汀与药根碱在各自测定的线性范围内,直线方程基本过原点,并由于双向展开点样方式的限制,用外标一点法定量,取两块薄层板平行测定的平均值。从精密度测定结果看,此分析方法异板精密度与同板精密度相差不大。

3.4 黄藤素粗品中有不溶物,样品用乙醇充分溶解后,过滤,取滤液才能薄层测定。

3.5 该分析方法中的碱展开系统(1),可作为没有掺杂黄连素的黄藤素粗品的含量测定方法,分别测定巴马汀与药根碱的含量准确、简便、快速。

3.6 该方法所用色谱条件经反复实验证明重现性好,检出斑点清晰圆整、直观、专属性强,为药厂及药检部门收购、鉴定黄藤素粗品提供了可靠的质量检验方法。

参 考 文 献

1 北京医学院. 中草药成分化学. 1980. 124
2 中国药典一部. 1995. 120、800
3 云南省药品标准编审领导小组办公室编印. 大黄藤素及其制剂. 1975
4 万绍晖,等. 中草药, 1996, 27(8): 463

(1997-01-032 收稿)

HPTLC Determination of Synthetic Berberine Mixed in Fibrauretinum as Adulterant

Zheng Ping, Xie Xiaotian, Fan Yagang

A two dimensional thin layer chromatographic method was established to determine the amount of synthetic berberine mixed in fibrauretinum as adulterant by HPTLC plate. Flurecence localization was at λ=365 nm. The method has been applied for the quantitative determination of palmatine and jatrorrhizine in fibrauretinum and proved to be simple, accurate and reproducible.