

痛经一贴灵散中九龙藤的薄层色谱鉴别

广西药品检验所(南宁 530021) 桑 彤

九龙藤为云实科(或豆科)植物龙须藤 *Bauhinia championii* (Benth.) Benth. 的干燥藤茎。功能祛风除湿,活血止痛,健脾理气,用于风湿关节炎、腰腿痛、跌打损伤、胃痛、痢疾、月经不调、胃及十二指肠溃疡、老人病后虚弱和小儿疳积等(广西中药材标准·第二册),是痛经一贴灵散的主要成分之一。为了对痛经一贴灵散进行有效的质量监控,我们在工作中经过反复试验,建立了薄层色谱法,能有效地检出痛经一贴灵散中的九龙藤,取得了满意的成果。

1 仪器与试剂

1.1 三用紫外线分析仪,939型薄层制板器,定量毛细管,硅胶G(青岛海洋化工厂),其他试剂为分析纯;痛经一贴灵散由广西源安堂制药厂提供,九龙藤对照药材:由广西药品检验所提供。

2 实验方法与结果

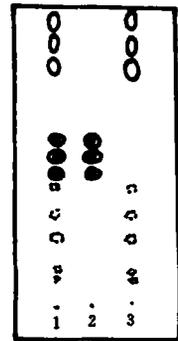
2.1 九龙藤对照药材溶液的制备:取九龙藤对照药材1g,加乙醚15mL,冷浸30min,时时振摇,弃去乙醚,残渣挥干乙醚。加乙醇25mL,浸泡过夜,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯2mL使溶解,作为对照药材溶液。

2.2 阴性对照溶液的制备:按处方量,取去除九龙

藤的其余药材,照痛经一贴灵散制备缺九龙藤的阴性对照液。

2.3 供试品溶液的制备:取痛经一贴灵散4g,照对照药材制法同法制得供试品溶液。

2.4 薄层色谱条件及结果:按《中华人民共和国药典》1995年版一部附录VIB试验。吸取对照药材溶液5 μ L及供试品溶液10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚(60 $^{\circ}$ C~90 $^{\circ}$ C)-氯仿-醋酸乙酯-甲醇(15:8:3:1.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色蓝色的荧光斑点,阴性对照溶液无干扰(图1)。



1-痛经一贴灵散
2-九龙藤对照药材
3-阴性对照

图1 样品薄层图

致谢:生药样品均由本所黄燮才主任技师鉴定。

(2000-01-31 收稿)

高效液相色谱法测定澄清剂处理黄柏水提液中小檗碱的含量

南京军区南京总医院(210002) 王曙东 宋炳生
上海中医药大学 陶建生

中药制剂过程中,现多采用乙醇作为澄清剂,以除去醇不溶性成分而达到澄清目的,这样极易造成有效成分的丢失而影响药物疗效,同时需耗用大量酒精。本文以肾舒冲剂(黄柏为例),采用水煎液壳聚糖澄清处理,HPLC法测定小檗碱的含量,并与水醇法作比较。

1 药品、试剂和仪器

中药购自上海市药材公司,小檗碱对照品购于中国药品生物制品检定所,壳聚糖购于华东理工大学理学院华凯科技贸易公司(用1%醋酸溶液配成

1%壳聚糖溶液)。所用试剂均为AR。

色谱仪系统包括UV200紫外可变波长检测器,P200高压恒流泵(大连化物所),GJ-605型高压六通进样阀(进样杯体积20 μ L)。数据采集及处理采用WDL-95色谱工作站(国家色谱中心),在486微机上实现。色谱柱:Spherisorb C₁₈ 5 μ m 4.6mm \times 250mm(大连化物所)。

2 小檗碱的含量测定方法

2.1 色谱条件:流动相为乙腈-0.04mol/L H₃PO₄(42:58),检测波长349nm,流速1.0mL/min,柱

温:室温。

2.2 标准曲线:精密称取 105 ℃干燥至恒重的小檗碱 2.4 mg 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解至刻度,得 240 μg/mL 对照溶液。加甲醇配成 120 μg/mL 溶液,分别取 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mL 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,进样量 10 μL 测定。以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为: $Y=263.09.60X-355.42, r=0.9998$ 。小檗碱在 1.2~19.2 μg/mL 范围内峰面积与进样浓度呈线性关系。

2.3 精密度试验:精密吸取小檗碱对照品液(0.36 μg/mL) 0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,加醇至刻度,连续进样 5 次,每次 2 μL,得平均峰面积值为 48 122, RSD 为 0.60%。

2.4 重现性试验:平行取处方水煎液 10 mL(相当含黄柏 2 g) 5 份于三角瓶中,水浴挥干,依法测定峰面积,得小檗碱面积均值为 402 320, RSD 为 2.50%。

2.5 回收率试验:精密吸取已知含量的水煎液,精密加入小檗碱对照品,依法测定,结果回收率为 89.99%, RSD=3.9%(n=4)。

3 不同澄清剂澄清工艺的比较

3.1 不同澄清剂的澄清工艺:取处方水提液 10 mL(相当含黄柏 2 g)各 3 份,按下述方法分别处理。1号:50%乙醇沉淀,滤过,滤液水浴挥干;2号:40%壳聚糖溶液沉淀,80 ℃水浴加热片刻至澄清,滤过,滤液水浴挥干;3号:未经任何澄清处理,直接水浴挥干。

3.2 样品处理与测定结果:取上述样品分别加入 10 mL 氯仿,超声提取 10 min,过滤,挥干氯仿,残渣甲醇溶解并定容 10 mL。取 50 μL 甲醇混匀,注入液相色谱仪,进样量 20 μL。结果见表 1。

表 1 不同澄清方法的肾舒冲剂样品的含量测定

编号	1	2	3	平均值	RSD%
1 峰面积	400 000	409 000	383 500	397 500	3.25
浓度(μ/mL)	15.22	15.56	14.59	15.12	
2 峰面积	394 700	378 100	384 900	385 900	2.16
浓度(μ/mL)	15.02	14.38	14.64	14.68	
3 峰面积	420 900	433 600	420 200	424 900	1.75
浓度(μ/mL)	16.01	16.49	15.98	16.16	

4 正交设计优选壳聚糖最佳澄清工艺

4.1 试验因素与因素水平的确定:根据壳聚糖本身

的特点以及实际应用的情况,影响澄清效果的相关因素主要包括:壳聚糖加入量、药液浓度、药液的 pH 值,利用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。

因素 A 壳聚糖加入量: $A_1=0.4$ mL, $A_2=0.8$ mL, $A_3=1.6$ mL;

因素 B 药液浓度(g/mL): $B_1=2.0$, $B_2=1.0$, $B_3=0.5$;

因素 C 药液的 pH 值: $C_1=4$, $C_2=5$, $C_3=6$ 。

4.2 结果与分析:按 $L_9(3^4)$ 正交设计表所设定的工艺条件试验,结果见表 2、表 3。

表 2 壳聚糖澄清工艺的正交试验结果

试验号	A				峰面积	浓度(μg/mL)
	1	2	3	4		
1	1	1	1	1	128 600	4.90
2	1	2	2	2	131 300	5.00
3	1	3	3	3	109 500	4.18
4	2	1	2	3	90 090	3.44
5	2	2	3	1	116 400	4.44
6	2	3	1	2	106 000	4.04
7	3	1	3	2	101 200	3.86
8	3	2	1	3	106 400	4.06
9	3	3	2	1	103 400	3.94
I	14.08	12.20	13.00	13.28		
II	11.92	13.50	12.38	12.90		
III	11.86	12.16	12.48	11.68		
IV	4.69	4.07	4.33	4.43		
V	3.97	4.50	4.13	4.30		
VI	3.95	4.05	4.16	3.89		
VII	0.74	0.45	0.20	0.54		
Rj	480.99	478.96	478.01	497.19	$R_j = I^2 + II^2 + III^2$	
Sj=Rj/3-CT	1.07	0.39	0.08	0.47	$CT = (\sum X)^2/n = 159.26$	

表 3 壳聚糖澄清工艺的方差分析

变异来源	L	V	MS	F
A	1.07	2	0.535	2.28
B	0.39	2	0.195	0.83
C	0.08	2	0.040	0.17
误差	0.47	2	0.235	

$F_{0.05(2,2)} = 19.0$

实验结果表明,壳聚糖处理的样品含量较醇沉法略低,都低于未处理样品,正交试验方差分析表明,壳聚糖加入量、药液浓度、药液的 pH,在所选择的 3 个水平中对样品含量的影响无显著性差异。直观分析可知因素主次关系为 A、B、C,较好的方案为 $A_1B_2C_1$ 。

(2000-01-10 收稿)

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅