

复方黄柏液质量控制方法的研究

河北省药品检验所(石家庄050011) 徐韧柳* 戴 敬 韩桂茹

摘要 对复方黄柏液中的主要药味进行了薄层鉴别,利用柱层-薄层扫描法测定了其中盐酸小檗碱的含量。本方法可用于复方黄柏液的质量控制。

关键词 复方黄柏液 盐酸小檗碱 薄层色谱 薄层扫描

复方黄柏液是由连翘、黄柏、金银花等多味药材提取制成的外用制剂,具有清热解毒,祛腐生肌,消肿止痛的功能,用于治疗骨髓炎,疮疡溃后,外伤感染等,疗效显著。为控制产品内在质量建立了连翘、黄柏的薄层色谱鉴别方法和盐酸小檗碱的含量测定方法。

1 仪器和药品

CS-930薄层扫描仪,紫外光灯(日本岛津);定量毛细管(美国Drummond);盐酸小檗碱(分析纯);中性氧化铝(层析用,100~200目,上海试剂总厂五分厂);硅胶G(青岛海洋化工厂);薄层板(自制板,含0.5%CMC-Na);复方黄柏液(河北省新乐骨髓炎医院)。

2 薄层色谱鉴别

2.1 连翘:取样品40ml,加入盐酸10ml,氯仿25ml,水浴上加热回流1h,放冷,分取氯仿层,蒸干,残渣加无水乙醇1ml使溶解,作为供试品溶液。另取连翘对照药材2g,加水50ml煎煮30min,滤过,补充滤液约至40ml,自“加入盐酸10ml”起同法操作,制成对照药材溶液。再取不含连翘的空白样品,照供试品项下方法制得阴性对照液。吸取上述3种溶液各4~8 μ l,点于同一硅胶G薄层板上,以苯-醋酸乙酯-甲醇(15:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液。供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的2个红色斑点,而阴性对照液无此斑点,见图1。

2.2 黄柏:取样品40ml,加稀盐酸调节pH至2左右,用氯仿提取2次,每次15ml,合并提取液,蒸干,残渣加乙醇1ml使溶解作为供试品溶液。另取黄柏对照药材0.1g,加乙醇10ml水浴回流15min,取上清液作为对照药材溶液,再取盐酸小檗碱加乙醇制成每1ml含0.1mg的溶液,作为对照品溶液。取不含黄柏的空白样品,照供试品项下操作制得阴性对照液。吸取对照品及对照药材溶液各2 μ l,其他2种溶液各5 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-氨水(6:3:1.5:1.5:0.5)为展开剂,置氨蒸气饱和的层析缸内,展开后,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视,供试品色谱中在对照药材色谱相应的位置上显2个相同的黄色荧光斑点,在与对

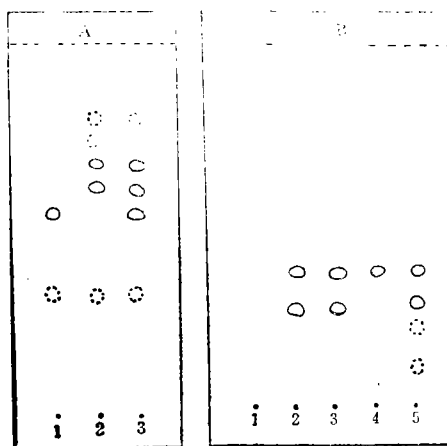


图1 复方黄柏液TLC图

A-连翘 1-连翘阴性对照 2-连翘药材 3-供试品 B-黄柏 1-阴性对照 2-供试品 3-黄柏药材 4-盐酸小檗碱 5-含量测定用供试品

*Address: Xu Renliu, Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang

照品色谱相应的位置上显相同的一个黄色荧光斑点,而阴性对照品无此斑点,见图1。

3 含量测定

3.1 对照品溶液和供试品溶液的制备:精密称取盐酸小檗碱约5mg,置50ml量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

精密吸取样品溶液25ml,置小蒸发皿中,水浴上蒸干,用少量50%乙醇溶解。加入1g中性氧化铝,拌匀,蒸干溶剂,使成松散粉末状,加在预先填充好的氧化铝柱(内径约0.6cm,中性氧化铝5g,干法装柱)上面,用脱脂棉团沾无水乙醇少许拭净皿上所沾样品。放入柱内,用无水乙醇40ml洗脱,蒸干洗脱液,用乙醇溶解并定容为2ml,摇匀,作为供试品溶液。

3.2 薄层色谱和扫描条件的选择:自制不含黄柏的缺味样品,按供试品溶液方法制备黄柏空白对照液。将盐酸小檗碱对照液、供试品溶液、黄柏空白对照液点在同一块硅胶G薄层板上,用黄柏薄层色谱鉴别项下的展开剂展开后,置紫外光灯(365nm)下检视,确定斑点位置。

对盐酸小檗碱对照品斑点,供试品相应斑点及黄柏空白对应处分别进行紫外区全波长光谱扫描,结果见图2。由图谱可知,样品及对照品的吸收曲线一致,黄柏空白为一条吸收度近乎是零的直线。由于该薄层色谱分离较好,背景无干扰,故选择单波长反射法锯齿扫描进行测定,340nm为测定波长。狭缝 $1.2 \times 1.2\text{mm}$,灵敏度中等,线性化参数 $S_x = 3$ 。

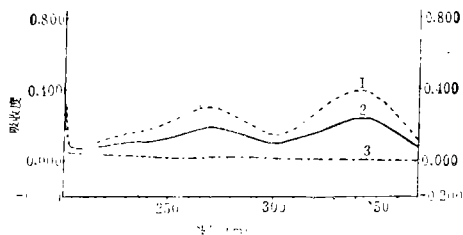


图2 盐酸小檗碱、复方黄柏液样品光谱扫描图

1-盐酸小檗碱 2-样品 3-黄柏空白样品

3.3 标准曲线的制备:用定量毛细管吸取盐酸小檗碱对照品溶液(0.113mg/ml)1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μl 分别点于同一块硅胶G薄层板上,依上述条件展开后扫描测定,以点样量为横坐标,斑点面积积分为纵坐标,作图得一直线,回归方程为 $Y = 10800 + 21999X$ $r = 0.99956$,说明点样量在0.1~1.4 μg 之间与斑点面积积分值呈线性关系。

3.4 稳定性考察:对盐酸小檗碱某一斑点,间隔1h测定1次,共测定5次,其面积积分值的变异系数 $CV = 1.97\%$,说明盐酸小檗碱至少在4h内稳定性良好。

3.5 精密度考察:同板精密度考察:吸取相同量的盐酸小檗碱对照品溶液点于同一薄层板上,共点5个斑点,按上述方法展开,扫描。5个斑点的面积积分值的变异系数 $CV = 1.58\%$ 。

不同板精密度考察:同一供试品溶液同法在4块薄层板上进行测定,含量的变异系数 $CV = 1.91\%$ 。

3.6 回收率试验:精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液与样品溶液适量,置于同一蒸发皿内,蒸干后,上柱,同上述法处理,分别测定回收率。5次加样回收率分别为97.11%, 100.00%, 97.05%, 103.45%, 102.21%, 平均回收率99.96%, 变异系数 $CV = 2.91\%$ 。

3.7 样品测定:吸取盐酸小檗碱对照品溶液2 μl 和4 μl ,供试品溶液10 μl 交叉点在同一块硅胶G薄层板上,依上述方法展开,扫描,以外标两点法计算含量。如果样品中盐酸小檗碱含量较低,对照品溶液可点1 μl 和3 μl 。10批样品的含量测定结果见表。

(下转第137页)

- 5 彭新君. 湖南中医学院学报, 1992, 12(3): 48
- 6 Ray P. J Indian Chem Soc, 1940, 17: 681
- 7 Delezenne C. Ann Inst Pasteur, 1919, 33: 68
- 8 Fleckenstenin, et al. Arch Exper Path U Pharmacol, 1952, 214: 135
- 9 Fleckenstenin, et al. Arch Exper Path U Pharmacol, 1952, 215: 163
- 10 Kaye M A G. Biochem et Biophys Acta, 1955, 18: 456
- 11 Kaye M A G. Congr Intern Biochim, Resumes Commus, 3 Congr, Brussels, 1955, 36
- 12 Achyuthan K E, et al. Biosci, 1983, 5(1): 1
- 13 Klas B. Augustinsson Arkiv Kemi, 1952, 4: 277
- 14 Moav B, et al. Radiochem methods Anal, Proc Symp, Salzburg Austra, 1964, 1: 205
- 15 Khole V, et al. Indian J Biochem Biophys, 1984, 21(6): 409
- 16 中国科学院北京动物研究所. 动物学参考资料, 1975, 4
- 17 徐淑云等. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 595
- 18 陈汝筑, 等. 中国药理学通报, 1988, 4(2): 113

(1993-11-30收稿)

(上接第128页)

讨论

黄柏薄层鉴别中首先将样品酸化或碱化, 再用氯仿萃取均比直接萃取效果好。

进行含量测定时, 使用多种有机溶剂均不能将盐酸小檗碱萃取完全, 故采用全量蒸干后上柱处理, 洗脱剂选用无水乙醇。如用95%乙醇洗脱(中国药典. 一部. 1990. 474), 杂质洗脱下来的要多, 进行薄层扫描时, 色谱背景有些干扰。用无水乙醇40ml洗脱后继续洗脱, 所收集的洗脱液中未检出盐酸小檗碱斑点。

盐酸小檗碱的含量测定方法已有不少报道, 由于本品为液体制剂且盐酸小檗碱含量较低, 其他成分干扰大, 柱层-紫外分光光度法, 计算紫外分光光度法等均不适用。将样品蒸至近干用氯仿-盐酸(100:1)回流提取〔李同芬. 中国中药杂志, 1989, 14(6): 33〕, 制备供试品溶液, 薄层扫描测定结果偏低。经过反复试验摸索, 采用了柱层分离后, 再用薄层扫描法测定。文中所述定性和定量方法简便易行, 结果可靠, 专属性强, 重现性好, 可用于监测产品的内在质量。

(1993-10-11收稿)

表 复方黄柏液中盐酸小檗碱含量

批 号	含量 (mg/100ml)		平值均
910701	0.216	0.227	0.222
910801	0.261	0.257	0.259
910901	0.229	0.217	0.223
901302	0.170	0.179	0.174
910805	0.154	0.148	0.151
910906	0.192	0.192	0.192
920101	0.174	0.181	0.178
920603	0.173	0.169	0.171
920704	0.193	0.188	0.190
920905	0.153	0.153	0.153

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Alkaloids of Shezushishan (*Huperzia serrata*)

Yuan Shanqin, Feng Rui, Gu Guoming

Four alkaloids were isolated from *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev., The structures of these alkaloids were identified as des-N-methyl- β -obscurine (I), lycopodine (II), lycodoline (III), and 6- α -hydroxy-lycopodine (IV) by means of spectral analysis (UV, IR, NMR, MS). Compounds I and IV were isolated for the first time in the species.

(Original article on page 115)

Studies on the Chemical Constituents of Hairyleaf

Taxillus (*Taxillus nigrans*)

Li Liangqiong, Li Meirong, Yang Zhibiao, et al

From the leave of *Taxillus nigrans* Danser eight compounds were isolated. On the basis of physico-chemical properties and spectroscopic analysis, they were identified as (+)-catechin (I), 7-O-galloyl (+)-catechin (II), isoquercitrin (III), avicularin (IV), quercetin-3-O-(6'-galloyl)- β -D-glucoside (V), quercetin-3-O-(6'-galloyl)- β -D-galactoside (VI), rutin (VII), and quercetin-3-O- β -D-glucuronide (VIII). All of them were found in this plant for the first time.

(Original article on page 118)

Studies on the Chemical Constituents of Austral

Akebia (*Akebia trifoliata* var. *australis*)

Ma Shuangcheng, Chen Dechang, Zhao Shujie, et al

A triterpenoid glycoside was isolated from the seed of *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels) Rehd. by column chromatography. The structure was identified on the basis of IR, ^1H , ^{13}C NMR, FAB-MS, acidic hydrolysis and basic hydrolysis as 3-O- β -D-xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- α -L arabinopyranosyl hedercagenin-28-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside. This compound was obtained from this plant resources for the first time and named as saponin E.

(Original article on page 122)

Study on Quality Control of Fufanghuangbai Liquid

Xu Renliu, Dai Jing, Han Guiru

Fufanghuangbai Liquid is a compound prescription for topical use containing *fructus Forsythiae*, *Cortex phellodendri* and *Flos Lonicerae* as its main ingredients. A method for the identification of these ingredient by TLC was developed while the content of berberine hydrochloride in the prescription was determined with column chromatography and TLC scanning. The method can be used to control the quality of Fufanghuangbai Liquid.

(Original article on page 127)

Studies on the Quality of Traditional Chinese

Medicinal Herbs Qianhu Growing in Gansu

Yang Jing, Song Pingshun, et al

A comparative study on the histological and morphological characteristics and the intrinsic quality of the roots of Huabei Qianhu (*Peucedanum harringtonii*), Shaomao Bei