

黄松油质量标准研究

赵 庄, 黄东萍*

(广西药品检验所, 广西南宁 530021)

中图分类号: R 927. 11

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)11-0996-03

黄松油系由祖传验方根据中医药理论研制而成的中药保健药品, 本方以国家一类新药龙血竭为君药, 活血散瘀, 定痛止血, 敛疮生肌, 佐以大黄、丁香等解毒泻火、散瘀止血等药味, 经水杨酸甲酯、茶油提取加工制成搽剂, 具有活血散瘀、清热解毒的功效, 用于跌打损伤、疮疖等症。经临床验证, 本品治疗急性扭挫伤和疖肿的总有效率分别为 91.7% 和 93.3%。本文对其质量标准进行了研究, 制订了龙血竭、大黄、虎杖、紫草、丁香、水杨酸甲酯的薄层色谱鉴别, 并用 HPLC 法测定了龙血素 B 的含量, 方法简便可行, 准确可靠, 能有效控制制剂质量。

1 仪器和试剂

Waters 高效液相色谱仪, 515 泵, Waters 996 检测器, Waters 2010 色谱工作站。

龙血素 B 对照品由广西中医药研究所提供, 归一化法含量 > 99.5%; 大黄素、丁香酚对照品由中国药品生物制品检定所提供; 硅胶 G 和硅胶 HF₂₅₄ (青岛海洋化工厂生产), 其它试剂均为 AR 级; 黄松油 (广西桂平市民康中药厂)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别: 采用薄层色谱法对黄松油中主要药物龙血竭、大黄、虎杖、紫草、丁香、水杨酸甲酯进行定性鉴别。

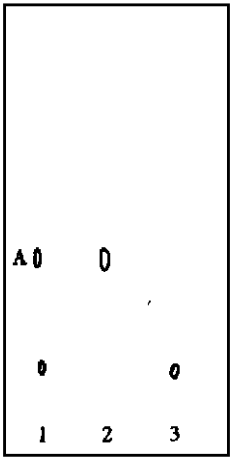
取本品 2 mL, 加硅藻土 2 g, 研匀, 加石油醚 (60~90 °C) 10 mL, 振摇数分钟, 抽滤, 弃去滤液, 滤渣用少许石油醚 (60~90 °C) 洗涤, 滤渣加氯仿 10 mL, 振摇数分钟, 抽滤, 弃去滤液, 滤渣加乙醇 10 mL, 超声处理 15 min, 抽滤, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取龙血竭对照药材 10 mg, 研细, 加氯仿 10 mL 振摇, 过滤, 滤渣加乙醇 10 mL 超声处理 15 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 5 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。再取缺龙血竭阴性样品 2 mL 按供试品制备方法制成龙血竭阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60~90 °C)-醋酸乙酯 (3/7) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯

(365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性对照液色谱中无相应的斑点。见图 1。

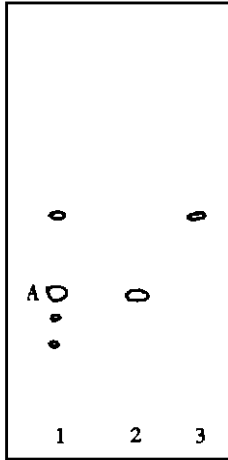
取本品 10 mL, 加 10% 盐酸溶液 10 mL, 加热水解 30 min, 放冷, 加氯仿 15 mL 振摇提取, 分取氯仿液, 蒸去氯仿, 剩余溶液作为供试品溶液。另取大黄素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺大黄、虎杖阴性样品 10 mL 按供试品制备方法制成大黄、虎杖阴性对照液。吸取供试品溶液 3 μ L、对照品溶液 1 μ L、阴性对照液 3 μ L 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60 °C)-甲酸乙酯-甲酸 (15/5/1) 的上层溶液展开, 置紫外灯光 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的橙黄色荧光斑点, 置氨蒸气中熏后, 日光下检视, 斑点变为红色, 而阴性对照液色谱中无相应的斑点。见图 2。

取本品 10 μ L, 加活性炭 10 g, 搅拌均匀, 加氯仿 15 mL, 振摇, 滤过, 滤液浓缩至约 2 mL, 作为供试品溶液。另取紫草对照药材 0.2 g, 加氯仿 5 mL, 浸渍 10 min, 滤过, 滤液作为对照药材溶液。再取缺紫草阴性样品 10 mL 按供试品制备方法制成紫草阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的含羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 使成条状, 以石油醚 (60~90 °C) 为展开剂, 展开约 8 cm, 取出, 晾干, 再以石油醚 (60~90 °C)-氯仿-醋酸乙酯 (6/3/1) 为展开剂, 展至约 5 cm, 取出, 晾干, 在自然光下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的条斑, 而阴性对照液无相应的斑点。见图 3。

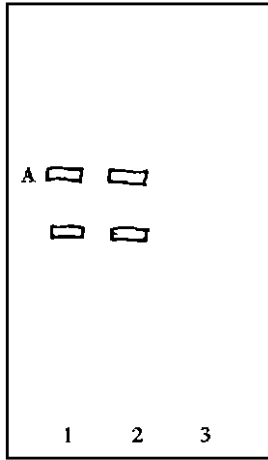
取本品 100 mL, 加水 100 mL, 照挥发油测定法测定, 保持微沸 30 min, 分取挥发油层作为供试品溶液。另取水杨酸甲酯对照品, 加氯仿制成每 1 mL 含 10 μ L 的溶液, 作为对照品溶液。另取丁香酚对照品, 加乙醚制成每 1 mL 含 8 μ L 的溶液, 作为对照品溶液。再取缺水杨酸甲酯、丁香阴性样品各 100 mL 按供试品制备方法分别制成水杨酸甲酯阴性对照液



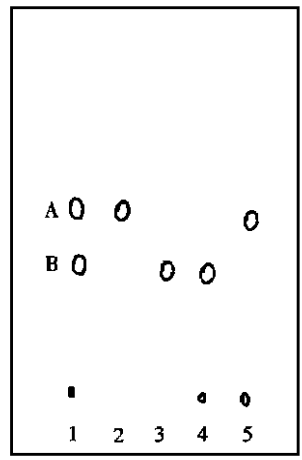
1-样品 2-对照药材
3-阴性对照 A-蓝紫色
图 1 龙血竭薄层色谱图



1-样品 2-大黄素对照品
3-阴性对照 A-橙黄色
图 2 大黄、虎杖薄层色谱图



1-样品 2-对照药材
3-阴性对照 A-蓝紫色
图 3 紫萁薄层色谱图



1-样品 2-水杨酸甲酯对照品
3-丁香酚对照品 4-水杨酸甲酯阴性对照
5-丁香阴性对照 A-蓝紫色 B-棕黄色
图 4 水杨酸甲酯、丁香薄层色谱图

和丁香阴性对照液。吸取上述 5 种溶液各 5 μL ，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚 (60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) - 醋酸乙酯 (9 : 1) 为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。见图 4。

2.2 龙血素 B 的含量测定: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 乙腈-水-冰醋酸 (38 : 62 : 1) 为流动相; 检测波长为 275 nm。理论塔板数按龙血素 B 峰计算应不低于 5 000。

对照品溶液的配制: 精密称取对照品 10 mg，置 50 mL 容量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度作为贮备液。精密量取 3 mL，置 50 mL 容量瓶中，加流动相稀释至刻度，作为对照品溶液。

供试品溶液的制备: 取本品 5 瓶，倾出内容物，混匀，精密量取 10 mL，加硅藻土 15 g，混匀，置索氏提取器中，加石油醚 (60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) 100 mL，置水浴中加热回流 5 h，弃去石油醚液，加氯仿 100 mL，85 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热回流 8 h，蒸干氯仿，残渣加醋酸乙酯适量溶解并移置 2 mL 容量瓶中，用醋酸乙酯洗涤容器并稀释至刻度，摇匀，滤过，弃去初滤液，精密量取滤液 200 μL 点于含羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 HF₂₅₄ 薄层板上，使成条状，并点对照品溶液 10 μL 作为对照。用石油醚 (60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$) - 醋酸乙酯 - 氯仿 - 甲醇 (15 : 8 : 2 : 1) 为展开剂，展开。取出，晾干，置紫外光灯 (254 nm) 下检视，刮取与对照品相应位置上的条斑置 3 号垂熔漏斗中，用 25 mL 乙醇洗脱，收集洗脱液，蒸干，加流动相溶解并移置 1 mL 容量瓶中，稀

释至刻度。摇匀，经 0.45 μm 滤膜滤过，滤液作为供试品溶液。同时制备不含龙血素的阴性样品溶液。

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性供试液 20 μL 注入色谱仪，记录色谱图，结果供试品与对照品溶液均在相同保留时间内出现吸收峰，龙血素 B 峰保留时间约为 24 min，阴性样品图谱在龙血素 B 峰位置处无吸收峰，即本试验条件下龙血素 B 峰与其它组分分离完全。

线性关系考察: 分别精密量取对照品贮备液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 于 50 mL 容量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀备用。在上述色谱条件下，进样量 2 μL ，记录色谱图，以峰面积对进样量 (μg) 进行线性回归，回归方程为:

$$Y = 2.78 \times 10^6 X - 7003, r = 0.9999, \text{线性范围为 } 0.038 \sim 0.38 \mu\text{g}$$

精密度试验: 取对照品溶液 20 μL 连续进样 6 次，分别测其峰面积，结果日内精密度 (RSD) 为 0.52%，连续 6 d，每天进样一次，得日间精密度为 0.67%。

重现性试验: 取同一批样品 5 份，按供试品测定方法进行测定，RSD 为 2.21%。

稳定性试验: 取同一份供试品溶液于 0, 1, 4, 8, 12, 24 h 进行测定，RSD 为 0.98%，稳定性良好。

回收率试验: 精密量取已测知含量的同一样品 5 份各 5 μL ，分别精密加入龙血素 B 对照品的流动相溶液 (19.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 3 mL，混匀，以下按供试品溶液的制备方法制备供试液，进样，计算回收率，平均回收率为 98.5%，RSD 为 1.94% ($n = 5$)。

样品测定:按供试品及对照品制备方法制备供试液及对照品溶液,分别进样,以外标法计算样品中的龙血素 B 的含量,结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果($n=3$)

批号	含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD(%)
20000107	13.35	0.8
20000201	12.93	1.2
20000308	8.93	1.9
20000507	12.31	0.9
20000609	10.97	1.6

3 讨论

3.1 龙血竭含剑叶龙血素 A、B、C、龙血素 B、正二十二烷醇^[1-4]等。曾参照龙血竭药材质量标准^[5]中鉴别(1)、(2)、(3)对其中的剑叶龙血素 C、脂肪族化合物、甾醇化合物等进行薄层色谱试验,由于供试品中含有大量的脂溶性成分,难以分离富集供试品的待检成分,故选用龙血竭药材作为对照进行薄层色谱鉴别试验。本品加硅藻土研匀,可使待检成分吸附在硅藻土上,用石油醚(60~90)可洗去本品中大量的水杨酸甲酯和茶油等脂溶性杂质;用氯仿提取除去杂质,可消除背景干扰,使主斑点更清晰;再用乙醇超声处理,可将待检成分从硅藻土上洗脱。

3.2 大黄、虎杖均含蒽醌类成分,主要为大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚等,采用双阴性薄层鉴别,以大黄素为对照品可鉴别大黄或虎杖。

3.3 本品为茶油与水杨酸甲酯浸泡而得的搽剂,加硅藻土拌匀吸附液体后,经索氏提取器用石油醚洗去茶油与水杨酸甲酯,再用氯仿将龙血素 B 成分提取出来,由于成分复杂,以氯仿提取液直接进入液相色谱仪,龙血素 B 峰未能达到较好的分离,且其中脂溶性杂质严重污染 C₁₈柱。所以参照文献^[5]方法处理,结果供试品中龙血素 B 峰与其它杂质峰达到基线分离,与最邻近峰的分度度约为 1.75,且龙血竭的阴性对照无干扰。

3.4 经测定,龙血素 B 在 275 nm 处有最大吸收,选择为检测波长,保证了检测的灵敏度。

3.5 分别取同一批样品 4 份,按供试液制备方法用氯仿水浴加热回流 6, 7, 8, 9 h, 测定其龙血素 B 的含量,结果表明采用 8 h, 足以将样品中龙血素 B 提取完全。

参考文献:

- [1] 王雪芬, 卢文杰, 陈家源. 剑叶龙血树化学成分的研究. 剑叶龙血素 A 和 B 的结构测定[J]. 广西中医药, 1993, 16(1): 38-39.
- [2] 王雪芬, 唐人九, 卢文杰, 等. 剑叶龙血树化学成分的研究. 剑叶龙血素 C 的结构测定[J]. 广西中医药, 1993, 16(1): 39.
- [3] 唐人九, 文东旭, 韦宏, 等. 广西龙血竭石油醚和醋酸乙酯部位中的化学成分[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 421-423.
- [4] 卢文杰, 王雪芬, 陈家源, 等. 剑叶龙血素氯仿部位化学成分的研究[J]. 药学学报, 1998, 33(10): 755-758.
- [5] 国家药品监督管理局国家标准 WS_{3-082(2-016)-99(Z)}.

· 订阅启事 ·

《中国医药学报》国内外公开发行人, 月刊, 每期定价 5 元, 订阅代号: 18-90, 地址: 北京市和平街北樱花路甲 4 号, 邮编: 100029, 联系人: 赵东, 电话: 010-46216650, 传真: 64297982。

《中国生化药物杂志》国内外公开发行人, 双月刊, 每期定价 8 元, 国内邮发代号: 26-233, 国外代号: BM-4561, 地址: 南京市草场大街 111 号, 邮编 210011, 电话(传真): 6228442。

《中国民间疗法》, 月刊, 每册定价 5.8 元, 邮发代号: 82-695, 地址: 北京朝阳区东兴路七号, 邮编: 100027, 电话: (010) 64150341。

《华西药理学》, 双月刊, 定价 8 元, 邮发代号: 62-79, 地址: 成都市人民路三段 17 号, 邮编: 610041, 电话: (028) 5501395, 传真: 5501400。

《药卷有益——求医问药》, 月刊, 定价: 3.5 元, 邮发代号: 6-88, 地址: 天津市新华南路庆元里 21 号, 邮编: 300050, 电话: (022) 23397064。

《江西中医药》, 双月刊, 定价: 3.8 元, 邮发代号: 44-5, 国外代号: BM 1012; 《江西中医学院学报》, 季刊, 定价: 3.5 元, 邮发代号: 44-79, 地址: 南昌市阳明路 56 号, 邮编: 330006, 电话: 0791-6814440。

《中医临床杂志》, 双月刊, 定价: 4 元, 邮发代号: 26-131, 国外代号: BM 6656, 地址: 合肥市大通路明光小区 5 幢, 邮编: 230011, 电话: 0551-4475775。

《肘珍国医国药》, 月刊, 定价: 6 元, 邮发代号: 38-168, 国外代号: M 4340, 地址: 湖北黄石市天津路 169 号, 邮编: 435000, 电话: (0714) 6225102, 传真: (0714) 6224836。

《广东药学》, 双月刊, 定价: 6 元, 邮发代号: 46-170, 地址: 广州市竹丝岗四马路 2 号, 邮编: 510080, 电话: 020-87778092-8292(含传真)。

《实用中医药杂志》, 月刊, 定价: 3.50 元, 邮发代号: 78-100, 地址: 重庆市江北区桥北村 270 号, 电话: 023-67761329, 邮编: 400020。

《辽宁中医杂志》, 月刊, 定价: 4.5 元, 国内代号: 8-87, 国外代号: M 530; 《辽宁中医学院学报》, 季刊, 定价: 4 元, 国内代号: 8-179, 国外代号: 4817Q, 地址: 沈阳市崇山东路 79 号, 邮编: 110032, 电话/传真: 024-86237420。

《河北中医》, 月刊, 定价 6 元, 邮发代号: 18-30, 国外代号: 6356M 地址: 石家庄市青园街 241 号, 邮编: 050021, 电话: 0311-5883896。

《山西中医》, 双月刊, 定价: 3.5 元, 邮发代号: 22-30, 国外代号: BM 977, 地址: 太原市东华门 23 号, 邮编: 030013, 电话: 0351-4173499。

《西北药理学杂志》, 双月刊, 定价: 5 元, 邮发代号: 52-106, 国外代号: BM 6523, 地址: 西安市朱雀大街南段 205 号西安交通大学(医学校区), 邮编: 710061, 电话: (029) 5275134。

《中国农贸市场》, 月期, 定价: 1.5 元, 邮发代号: 5-8, 地址: 北京市圆明园西路 2 号, 中国农业大学, 电话传真: 010-62891388。

《云南植物研究》, 双月刊, 定价: 12 元, 邮发代号: 64-11, 地址: 云南昆明市北效黑龙潭, 中国科学院昆明植物所, 邮编: 650204, 电话: 0871-5223032。

《中医药信息》, 双月刊, 定价: 2.5 元, 邮发代号: 14-132, 国外代号: BM 1172, 地址: 哈尔滨市动力区和平路 24 号, 邮编: 150040, 电话: (0451) 2117809。