

五黄膏质量标准研究^{*}

★ 万子扬 欧阳爱军 (江西医学院第一附属医院药剂科 南昌 330006)

摘要:对五黄膏中黄芩、黄芪、防己进行了薄层色谱鉴别研究,结果表明方法简便、易操作、重现性好,无干扰;同时用薄层扫描法测定了黄芪中黄芪甲苷的含量,结果表明方法可靠、稳定、灵敏度高,其平均回收率为 95.85%。RSD 为 1.25%。

关键词:五黄膏;质量标准

中图分类号:R 284 **文献标识码:**A

五黄膏由黄连、黄柏、黄芩、黄芪、防己、大黄等 9 味中药组成,为烧伤外用药,具有抗炎、止痛、促进上皮细胞生长和抑制疤痕形成的功效。根据各药有效成分性质,我们对黄芩、黄芪、防己进行了薄层色谱鉴别研究,并对处方中主药黄芪甲苷进行了含量测定,结果满意,可作为该制剂的质量控制指标。现将实验报告如下。

1 仪器与试药

日本岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪;DR-2 型数据处理机;SPO-丁型自动显色喷雾器。黄芩苷、黄芪甲苷、粉防己碱、防己诺林碱,对照品均由中国药品生物制品检定所提供;硅胶 G 为青岛海洋化工厂生产;五黄膏自制;其它试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 黄芩薄层鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加甲醇 30 mL 超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 15 mL,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.1.2 阴性对照品溶液的制备 除去黄芩,其余各药按处方量投料制成阴性对照品;再取阴性对照品 10 g,按上法制得阴性对照品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.4 实验结果 吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-醋酸-水(10:7:5:3)的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 3% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同暗绿色颜色的斑点。

2.2 黄芪薄层鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加甲醇 30 mL 超声处理 30 分钟,滤过,滤液加于中性氧化铝(100~120 目,8 g,内径 10~15 mm)上,用 40% 甲醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,用水饱和正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.2.2 阴性对照品溶液的制备 除黄芪外,其余各药按处方量投料制成阴性对照品,取阴性对照品 10 g,按上法制得阴性对照品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.4 实验结果 吸取分别上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲酸-水(13:7:2)10 $^{\circ}$ C 以下放置过夜的下层溶液为展开剂,展开、取出、晾干、喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ 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,日光下显相同的棕褐色斑点;紫外光灯(365 nm)下显相同的橙黄色荧光斑点。

2.3 防己薄层鉴别

2.3.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加甲醇 30 mL,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.3.2 阴性对照品溶液的制备 除防己外,其余各药按处方量投料制成阴性对照品,取阴性对照品 10 g,按上法制得阴性对照品溶液。

2.3.3 对照品溶液的制备 取粉防己碱与防己诺林碱对照品,加氯仿制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合

^{*} 江西省卫生厅资助课题(2002A39)

溶液,作为阴性对照品溶液。

2.3.4 实验结果 吸取分别上述溶液各 5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-丙酮-甲醇(6:1:1)为展开剂,展开、取出、晾干、喷以稀碘化铋钾溶液。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。

3 黄芪甲苷含量测定

3.1 层析条件

吸附剂为含 0.5% CMC-Na 为粘合剂的硅胶 G 薄层板;展开剂:氯仿-甲醇-水(13:7:2)5~10 $^{\circ}\text{C}$ 放置 12 小时的下层溶液;显色剂:10% 硫酸乙醇溶液(105 $^{\circ}\text{C}$ 烘约 5 分钟)。

3.2 扫描条件

双波长反射法锯齿扫描。 $\lambda_{\text{S}}=530\text{ nm}$, $\lambda_{\text{R}}=700\text{ nm}$,狭缝 1.2 $\text{nm}\times 1.2\text{ nm}$, $S_{\text{X}}=3$ 。

3.3 线性关系

精密称取黄芪甲苷对照品,用无水甲醇溶解制成 1 mg/mL 的溶液,分别吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 点于同一硅胶 G 薄层板上,按上述条件展开显色后扫描,测定峰面积积分值,求得回归方程: $Y=5\ 936.6X+2\ 530.5$, $r=0.999\ 9$ 。线性范围为 1.06~5.30 μg 。

3.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液,在同一硅胶 G 薄层板上同量点 5 个点,展开显色后扫描,测定峰面积积分值,结果 $RSD=1.27\%$ ($n=5$)。

3.5 稳定性实验

取供试品溶液点于薄层板上,展开、显色,每隔 0.5 小时连续扫描 1 次,2.0 小时内测定 10 次,峰面积基本不变, RSD 为 2.38%,表明黄芪甲苷显色后,于 2 小时内测定结果是稳定的。结果 $RSD=2.38\%$ ($n=5$)。

3.6 重现性试验

取同一批号样品,精密称取 5 份样品,分别展开显色后测定峰面积,结果峰面积平均值为 561 979, $RSD=3.02\%$ ($n=5$)。

3.7 回收率测定

精密称取已知含量的样品 10 g ,准确加入黄芪甲苷对照品溶液 1 mL (相当于黄芪甲苷对照品约 1

mg),依法测定,结果平均加样回收率为 95.85%, $RSD=1.25\%$ ($n=5$)。

3.8 样品测定

精密称取样品 10 g ,加甲醇超声处理 30 分钟,共 4 次,每次 30 mL ,滤过,合并滤液,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 20 mL ,合并正丁醇液,用氨试液提取 2 次,每次 20 mL ,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加水 5 mL 使溶解,放冷,通过 D_{101} 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm ,长 12 cm),以水 50 mL 洗脱,弃去水液,再用 40% 乙醇溶液 30 mL 洗脱,弃去 40% 乙醇洗脱液,继用 70% 乙醇 50 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇溶解并转至 5 mL 量瓶内,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

另精密称取黄芪甲苷标准品,用甲醇配制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取上述两溶液,各 2 μL 和 4 μL 分别点于同一薄层板上,展开,显色后扫描测定,结果见表 1。

表 1 样品测定结果

样品批号	含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	平均结果/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	$RSD(\%)$
1	0.411	0.414	1.426
2	0.421		
3	0.417		
4	0.405		
5	0.414		

4 讨论

由于本制剂为软膏制剂,含有油脂类基质,因此选择了用超声处理的方法将处方中有效成分提取出来,这种方法较加热回流法更容易将有效成分提出,而结果干扰更小,在进行黄芪甲苷提取时,选用氧化铝和大孔树脂柱层析,能有效去除杂质,使结果干扰小,重现性好。

参考文献

- [1]中华人民共和国药典委员会.中国药典(一部)[M].北京:化工出版社,2000
- [2]吕武清.中成药中的药材薄层色谱鉴别[M].北京:人民卫生出版社,1997
- [3]江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海科学出版社,1985
- [4]徐礼荣.中草药有效成分分析法(上、下册)[M].北京:人民卫生出版社,1984

(收稿日期:2003-12-08)

专题征稿

《江西中医药》今年增设的重点栏目有《名方与验方》、《滕王阁医话》等。《名方与验方》要求所介绍的名方应区别于教科书,发前人所未发,验方应确有良效,重点在于介绍名方的临床新用及其临床机理的研究,验方在于收集整理。

《滕王阁医话》主要反映中医教学、科研、临床的一得之见,要求以小见大,有感而文,语言生动流畅,可读性强,富于知识性、趣味性。