

黄藤素片药品质量标准研究^{*}

张慧颖¹, 张 森¹, 夏海星², 蔡传涛³, 饶高雄^{1Δ}

(1. 云南中医学院, 云南昆明 650200; 2 云南白药集团股份有限公司, 云南昆明 650032;
3 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南昆明 650231)

摘 要: 目的: 改进黄藤素片的质量标准, 建立科学的质量控制技术。方法: 研究黄藤素片中有有效成分盐酸巴马汀的定性、定量分析技术。结果: 建立了黄藤素片有效成分盐酸巴马汀的薄层色谱定性, 高效液相色谱定量分析方法。结论: 建立的分析方法具有专属性, 分析准确、快速, 结果判断客观、可靠。

关键词: 黄藤素片; 质量标准; 定量分析

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000—2723(2008)04—0009—04

黄藤 *Fibraurea recisa* Pierre 是云南特色天然药物, 从藤茎中提取的总生物碱称黄藤素, 以盐酸巴马汀 (Palmatine chloride) 为主要组分。以黄藤素为原料药开发了黄藤素片、注射液、胶囊等制剂, 临床用于治疗泌尿系统感染, 妇科炎症等^[1-3]。其中黄藤素片有 40 多家企业拥有生产批文, 主要分布在云南、广西、湖南、四川等省区, 是黄藤素类主流品种。

黄藤素片执行《中国药典》1977 年版一部“黄藤素片”质量标准, 基于当时的管理要求和技术发展水平, 检验项目主要有性状、显色反应、重量法测定含量等。鉴别采用生物碱沉淀显色及氯化物鉴别法, 含量测定用苦味酸沉淀总生物碱法, 定性和定量的分析方法均是针对大类成分, 并不能明确指示主要成分盐酸巴马汀的存在和含量。

从现代药物质量控制的理念来看, 其质量标准检验项目不具备专属性, 因而难以有效控制药品质量, 有必要进行改进与提高, 为此, 我们开展相关研究, 建立了直接针对主要成分盐酸巴马汀的薄层

色谱 (TLC) 鉴别、高效液相色谱 (HPLC) 测定项目, 并对市场销售黄藤素片药品进行了分析和比较。

1 仪器与试剂

1.1 仪器和设备

SK3300LH 超声清洗仪 (上海科导), XS125A 电子天平 (瑞士普利塞斯), G5 数码照相机 (日本佳能), 岛津 LC-10A vp 液相色谱仪及 N2000 色谱工作站。

1.2 试剂和药品

盐酸巴马汀对照品 (批号 110732-200506 含量测定用), 盐酸药根碱对照品 (批号 110733-200005 含量测定用), 盐酸小檗碱对照品 (批号 110713-200208 含量测定用) 均购自中国药品生物制品检定所。HPLC 流动相用色谱纯试剂, 水用反渗透纯化水, 样品处理均用分析纯试剂。硅胶 G 薄层色谱板为青岛海洋化工厂产品。黄藤素片样品均为市场销售药品, 购自各地药店或医院药房, 共收集了 14 个厂家 30 个批号的药品 (表 1)。

^{*} 基金项目: 国家发改委高技术产业化西部专项“珍稀天然药用植物大黄藤人工培育与产业化示范工程”

收稿日期: 2008-05-13

作者简介: 张慧颖 (1982~), 女, 云南人, 从事天然药物化学及质量控制研究工作。Δ 通讯作者: 饶高雄, Tel 0871-6212194 E-mail: rao13987124569@qq.com

表 1 从市场购买的黄藤素片样品情况

样品编号	生产厂家代号	批准文号	样品编号	生产厂家代号	批准文号
1- 4	YX- WH	Z53021476	20	YN- SYZY	Z53020102
5- 9	YN- DC	Z53021373	21	YN- HTZY	Z45020609
10- 11	YN- BY- DL	Z53020914	22	YN- SWG	Z53020072
12- 13	YN- TAN	Z530202192	23	YN- DTHF	Z53021336
14- 15	YN- GJSW	Z53020213	24	GX- FL	Z53022252
16	YN- TL	Z53021647	25- 27	YN- ZWYY	Z53020154
17	YN- TL	Z53021648	28	KM- ZY	Z53020723
18- 19	YN- YMHH	H 53021501	29- 30	KM- ZY	Z53020722

2 定性鉴别方法与结果

2.1 现行标准及存在的问题

《中华药典》1977 年版一部“黄藤素片”鉴别项有（1）黄藤素和浓硫酸反应显黄绿色，（2）黄藤素在碱性条件下和丙酮缩合反应，氯离子和硝酸银的沉淀反应，（3）黄藤素硝酸盐针状结晶生成反应，按照标准检查 30 份样品均合格（表 2）。存在问题是：鉴别（1）生物碱浓硫酸显色反应显黄绿色比较普遍，（2）和（3）是小檗碱型季铵生物碱盐酸盐（如盐酸小檗碱等）的通性，产生的现象并不能直接指向有效成分盐酸巴马汀，因而不具备专属性。

2.2 薄层色谱（TLC）鉴别

2.2.1 薄层色谱方法

基于平行对照的薄层色谱（TLC）技术，对于有机化合物的鉴别专属性强、分析快速，已成为中

药鉴别的主要手段。针对黄藤素片有效成分盐酸巴马汀，研究确定了以下分析方法：黄藤素片研细，取粉末 0.03g 加 10mL 甲醇超声 10min，过滤后即 为供试品溶液；另取盐酸巴马汀以甲醇制成 1mg/mL 的对照品溶液。分别吸取供试品和对照品溶液 2μL 点于同一硅胶 G 板上，以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液（6:3:2:2:0.5）为展开剂，置氨蒸气饱和的色谱缸内展开，取出，晾干，以改良碘化铋钾试液显色后检视。

2.2.2 市售黄藤素片的 TLC 分析比较

黄藤素片市售药品 30 份按确定的 TLC 方法进行对比（图 1、表 2），有 28 份检出盐酸巴马汀，但 16 号除盐酸巴马汀外还有盐酸小檗碱；有 17 22 号 2 份样品未检出盐酸巴马汀，进一步的对比证明其成分是盐酸小檗碱，市场产品有假冒伪劣情况。

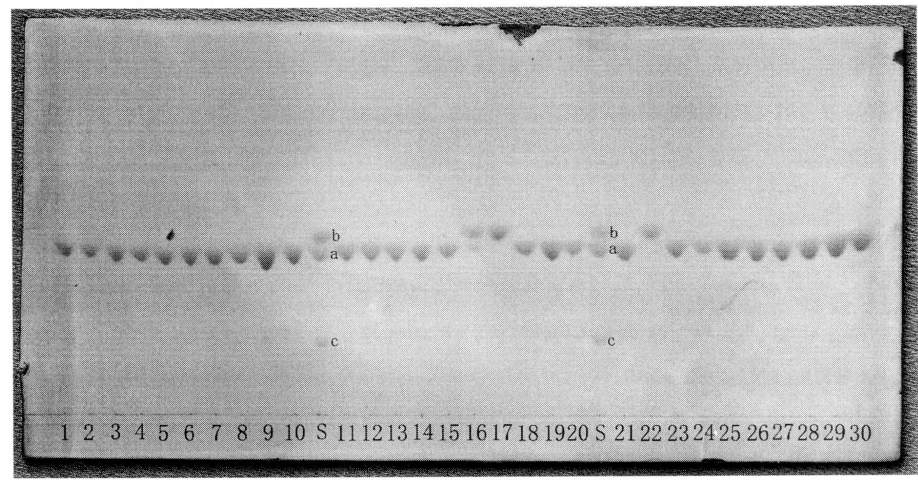


图 1 市售黄藤素片样品 TLC 分析色谱图
[1- 30 为黄藤素片，S 为对照品盐酸巴马汀（a）、盐酸小檗碱（b）、盐酸药根碱（c）]

3 含量测定方法与结果

3.1 现行标准及存在的问题

《中国药典》1977年版规定以苦味酸沉淀重量法测定黄藤素片含量不得少于标示量的 90%。用该方法测定 30 批黄藤素片盐酸巴马汀含量在 81.5% ~ 98.0% 之间, 有 7 份样品未达要求 (表 2)。但 2 份在 TLC 中未检出盐酸巴马汀的样品 (17、22 号) 及明显检出小檗碱的样品 (16 号) 含量测定达到要求。存在问题: 苦味酸是生物碱通用沉淀试剂, 其沉淀量表征的是总生物碱量, 不能排除小檗碱等掺伪假冒, 对有效成分盐酸巴马汀没有专属性。

3.2 市售黄藤素片含量 HPLC 分析比较

高效液相色谱 (HPLC) 具有分离和检测的技术优势, 适宜成分复杂系统的分析检测, 已成为中药鉴别的主要手段, 越来越广泛的应用于中药成分含量测定。为克服现行方法的缺陷, 针对黄藤素片有效成分盐酸巴马汀, 我们建立了测定含量的 HPLC 方法。

3.2.1 色谱条件及系统适用性

参照《中国药典》2005 版黄藤测定方法, 确定色谱条件为: 以乙腈 - 0.1% 磷酸溶液 - 十二烷基磺酸钠 [(45: 55) : 2/10000] 为流动相, 用十八烷基键合硅胶柱, 检测波长 347nm, 流速 1.0mL/min, 柱温 40℃; 进样 10μL。在此条件下盐酸巴马汀保留时间约 23min, 拖尾因子 1.01, 理论板数大于 10 000, 样品分离度大于 2。

3.2.2 对照品和样品溶液制备

取样品 10 片精密称定, 测定平均片重后任取 4 片研细, 准确称取相当于盐酸巴马汀 15mg 的量置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 密封, 超声处理 15min, 过滤, 取续滤液 2mL 置 10mL 容量瓶中用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液。另取盐酸巴马汀对照品适量, 精密称定后用甲醇制成浓度约 30μg/mL 的对照品溶液。

3.2.3 线性关系和方法学考察

线性关系: 对照品溶液以甲醇稀配制成浓度为 3、9、30、90、300μg/mL 的溶液测定, 峰面积分别为 56681、175694、613403、1853482、6004109, 数据回归处理得回归方程: Y (峰面积) = $2001497^* X$ (进样量 μg) + 11381 ($r = 0.9999$, $n = 5$)。盐酸巴马汀进样量在 0.03μg ~ 3.0μg 范围

内与峰面积呈良好的线性关系。

精密度试验: 以 30μg/mL 对照品溶液连续、重复进样 6 次, 色谱中盐酸巴马汀峰保留时间的 $RSD = 0.1\%$, 峰面积的 $RSD = 0.35\%$, 测定方法的精密度良好。

稳定性试验: 以上述色谱条件分别于 0、8、24、48、72h 测定同一溶液, 对照品 (样品) 溶液色谱中盐酸巴马汀峰保留时间 $RSD = 0.3\%$ ($RSD = 0.63\%$), 峰面积 $RSD = 1.25\%$ ($RSD = 1.44\%$), 测定溶液在 72h 内稳定, 符合含量测定要求。

重现性试验: 精密称取同一样品 (12 号) 6 份, 平行处理后测定含量分别为: 91.9%, 92.1%, 92.1%, 91.0%, 92.0%, 91.7%, 平均值 91.8%, $RSD = 0.46\%$ 。测定方法重现可行。

回收率试验: 精密称取同一批样品 (12 号) 粉末 9 份, 分为 3 组, 各组按所含盐酸巴马汀量的 80%、100%、120% 精密加入对照品, 平行处理后测定含量并计算回收率。结果表明, 回收率在 98.9% ~ 102.6% 之间, 平均值 101.1%, $RSD = 1.6\%$, 测定结果准确可靠。

3.2.4 市售黄藤素片含量的 HPLC 分析

市售的 30 批黄藤素片样品按上述方法测定 (表 2), 其中有 27 份样品图谱一致, 均以盐酸巴马汀峰为主而未出现盐酸小檗碱吸收峰, 但样品 17、22 号无盐酸巴马汀峰而有盐酸小檗碱峰, 样品 16 号则 2 者均有。HPLC 分析结果与 TLC 结果相一致。

市售黄藤素片中盐酸巴马汀含量在 0% ~ 101.1% 之间, 其中有 11 份样品的含量低于 90%, 其实际含量未达到药典要求。值得重视的是, 7 份重量法测定不合格的样品, HPLC 结果也均不合格; 另有 4 份重量法测定合格的样品, 经 HPLC 分析证明也不合格。

表 2 市售黄藤素片 30 批分析测定结果

No	批号	药典 1977 版		研究标准	
		鉴别	含量%	TLC	HPLC%
1	040618	+	98.0	+	98.7
2	050507	+	81.5	+	83.8
3	050508	+	84.9	+	86.5

续表 2 市售黄藤素片 30 批分析测定结果

No	批号	药典 1977 版		研究标准	
		鉴别	含量%	TLC	HPLC%
4	050818	+	83.6	+	87.1
5	04303	+	92.7	+	95.1
6	040501	+	90.1	+	93.0
7	050404	+	85.4	+	86.3
8	051102	+	91.2	+	94.3
9	060302	+	87.4	+	85.6
10	050402	+	86.4	+	86.5
11	050905	+	93.3	+	97.2
12	040508	+	91.0	+	90.7
13	041008	+	90.6	+	91.9
14	030803	+	93.3	+	94.8
15	030906	+	95.6	+	96.6
16	041008	+	90.1	+	27.6
17	050801	+	90.6	-	无
18	040202	+	92.1	+	95.4
19	050613	+	92.1	+	92.3
20	050103	+	97.5	+	95.8
21	040106	+	90.6	+	93.6
22	040502	+	91.0	-	无
23	050501	+	82.0	+	82.8
24	050608	+	90.2	+	88.1
25	051103	+	90.3	+	90.3
26	051104	+	90.4	+	90.1
27	051102	+	93.7	+	101.1
28	040423	+	91.8	+	92.7
29	040452	+	90.8	+	93.5
30	040454	+	93.7	+	91.3

4 结果与讨论

4.1 定性鉴别方法改进

市售黄藤素片按照《中国药典》1977年版鉴

别，包括不含盐酸巴马汀的 17、22 号，含少量盐酸巴马汀的 16 号，所有 30 份样品均符合标准，该鉴别方法不能准确判断真伪，存在重大技术缺陷。其原因是对有效成分未规定直接判定方法（如 TLC 等），造成以类似性质成分（如价格较低的盐酸小檗碱）假冒盐酸巴马汀投料不能区别。本文建立了直接针对有效成分的 TLC 分析方法，可准确判断投料情况，切实、客观、直接的分析、控制药品质量。

4.2 定量分析方法改进

市售黄藤素片按照《中华药典》1977 年版测定含量在 81.3% ~ 98.0% 之间，有 7 份样品未达到药典要求，但 16、17、22 号三份假劣药均符合要求。该方法测定的是总生物碱含量，不能排除小檗碱等类似物质掺伪假冒的干扰，专属性差。本文建立了能准确测定有效成分盐酸巴马汀含量的 HPLC 方法，能客观、准确、量化的评价黄藤素片产品质量。

4.3 研究的意义及应用价值

作为常规常用药品，黄藤素片应用广泛，尤其是在基层医疗单位，但检测数据表明市售黄藤素片质量状况不容乐观，存在较多假冒伪劣产品，质量标准的先天缺陷是重要原因。对于市售药品质量管理，除了加强监管外，在技术上不断改进和提高药品标准，使其逐渐趋向科学化、客观化，是中药现代化的重要研究方向。经过系统研究，我们从方法原理上揭示了现行黄藤素片标准存在的技术缺陷，建立了新的定性、定量分析方法。改进的标准定性客观，定量准确，具有专属性，较原标准有很大的改进，为黄藤素类药品的质量控制，提供了科学可行的分析方法，在生产实际中有明显的应用价值。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 (下册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 2044- 2045.
[2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1977. 521- 524.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 版 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 215- 216.

(编辑: 岳胜难)
(英文摘要见第 16 页)

坚龙胆主产于云南,随着龙胆使用量的逐渐增大,必须寻找龙胆新的资源。昆明龙胆为龙胆科龙胆属植物,此属植物大都具有清热利湿的功效是治疗黄疸、肝炎、头痛发烧的主药,经理化鉴别及薄层色谱鉴别,均证明昆明龙胆含有龙胆苦苷成分,是一味具有开发前景的中药。通过本课题的研究,对昆明龙胆的来源,药材性状,显微及理化特征进行系统的生药学研究,为今后对昆明龙胆作进一步的研究提供了参考依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国国家药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 64-65
- [2] 中科院昆明植物研究所. 云南植物志 (第 11 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 2003. 561.
- [3] 陈发奎. 常用中草药有效成份含量测定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 174-179.

(编辑: 岳胜难)

Pharmacognosy Study on *Herba Gentiana Duclouxii*

ZHANG Qing-zhi YANG Shu-de YOU Chun, QI Yan

(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650200)

ABSTRACT: Objective Study the identification of *Gentiana duclouxii* franch. Methods Application of source of identification, character identification, microscopic identification, physical and chemical identification. Results *Herba Gentiana duclouxii* is the dried herb of *Gentiana duclouxii* franch. Detailed describe the identification of it. Conclusion the results of experiment provide the basis for identification, development and utilization, and the development of quality standards.

KEY WORDS *Gentiana duclouxii* Franch. Identification

(上接第 12 页)

Improving Quality Standard of the Tablets *Fibrauretin*

ZHANG Hui-ying¹, ZHANG Sen¹, XIA Hai-xing², CAI Chuan-tao³, RAO Gao-xiong^{1*}

(1. Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650200;

2. Yunnan Baiyao Group Co., Ltd., Kunming Yunnan 650032

3. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, CAS, Kunming Yunnan 650231)

ABSTRACT: Objective To improve the quality standard for Tablets *Fibrauretin* and establish a scientific quality control techniques. Methods The qualitative and quantitative analysis techniques for the bioactive components palmitine hydrochloride have been studied particularly. Results The TLC and HPLC analysis methods of palmitine hydrochloride were established. Conclusion: The TLC and HPLC method for palmitine hydrochloride analysis of Tablets *Fibrauretin* was exclusive, accurate, objective and reliable.

KEY WORDS Tablets *Fibrauretin*; Quality Standard; Improving; Analysis