

· 讲 座 ·

国外药典中薄层层析技术应用简介

浙江省卫生厅药政处 倪慕慈

卫生部药品生物制品检定所 高增荣

薄层层析(TLC)技术,由于其兼具分离与检测两种功能,能提供斑点的 R_f 值和色泽(本身色斑;试剂处理后显现的色斑;紫外光灯下的荧光点或荧光板上的暗斑)双重信息,因而在药物分析中有着多方面的用途。国外药典中应用颇多,如美国药典(USP)在20版中仅各种制剂中即有约200处用TLC鉴别。英国药典(BP)1981增补本中,无论补列项目或新增品种,大量采用TLC于鉴别(包括糊剂、酏剂、合剂等)和检查(如消炎痛胶囊、栓,SA眼药水,VB₆片等)。至于有些品种的含量测定,则系用TLC-UV法,通常是用某展开剂展开一次,俟干后取检品、对照品分别点样并留空白区,用另一展开剂展开,在紫外光灯下定位,刮取相应的色谱区,经洗脱、滤过后,行分光光度测定。

同一品种的不同制剂,经分别处理后均可用TLC鉴别,如USP盐酸三氟拉嗪原料及注射液、片、糖浆。还有同一品种的两个项目如鉴别、检查分别用到TLC技术。TLC还有优于其它方法之处,如BP苄氟噻嗪及片剂,原用重氮化比色法检查“游离胺”,但因苄氟噻嗪在操作过程中,本身也可分解产生游离胺,故BP1980版改用TLC检查。

综观一些药典的应用情况,有下列特点

一、多组分或不同目的的检测一次完成

一次完成复方制剂中各组分的鉴别,如USP复方丙氧吩胶囊(含盐酸丙氧吩及APC),就是在同一层析板上,检品四个药

物主斑点的 R_f 值与色泽应与四种对照品相同。或一次完成多个杂质的检查,如USP对苯酰胺水杨酸钙及片剂检查间氨基酚等三个杂质。在适宜情况下,鉴别与检查也可一次完成,如USP复方SMZ口服混悬液,对SMZ的鉴别及三个分解产物的检查在同一板上一次完成,而对TMP及其分解产物则在另一板上一次完成。日本药局方去乙酰毛花甙丙检查“有关化合物”时,同时行鉴别试验。国际药典(1981)醋酸地塞米松的鉴别及“有关甾体”的检查是:点样(1)15mg/ml检品;(2)15mg/ml对照品;(3)等容的(1)、(2);(4)0.15mg/ml检品。展开后,(1)、(3)主斑点位置应与(2)同,且(1)的主斑点色度应与(2)相应,这是鉴别;如(1)有杂质斑点,色度不得深于(4),这是检查。

这类试验的前提条件是药物性质,与TLC的吸附剂展开剂等的选择,需相互适应时才有可能。

二、特殊处理

有些品种的鉴别,为加强专属性,对斑点行两次“定性”,如USP规定克霉唑乳膏,在紫外光灯下观察,检品与对照品的 R_f 值应相同,然后以碘化铋钾液显色,两者均应显橙色。为改善分离效果,也有采用两次重复展开的,如USP癸酸诺龙及苯丙酸诺龙注射液(均油溶剂)中检查“诺龙”。BP盐酸异搏定,BP及欧洲药典(EP)盐酸哌替啶也均是。有的品种是行双向TLC的,如BP氟奋乃静癸酸酯

注射液(油溶剂)检查“有关物质”，是在 $20 \times 20\text{cm}$ 板的底部右角点样，用氯仿展开 12cm ，取出俟干，顺时针方向转动 90° ，于板的底部右角溶剂前沿点对照品，用另一混合溶剂展开后，检品主斑点以外的任何杂质斑点不得深于对照品斑点。

三、判定标准

由于TLC制板时存在标准化问题， R_f 值受不同实验条件等影响，变化较大，故除一般以提供对照品来判定外，也有提供代用品甚至说明色谱情况(包括控制杂质斑点数)帮助判定的。

不少品种的鉴别，采用分别点同样量的(1)检品；(2)对照品；(3)等容的(1)、(2)。展开后，三者主斑点 R_f 值应相同，且(3)亦仅许出现单一的主斑点。当能确定杂质并可提供对照品时，这种检查最为理想。在不能提供对照品时，一些品种的检查，采用稀释检液或该品种的药物对照液作限度标准。BP磷酸氯喹、硫酸氯喹检查“有关物质”是取(1)5%；(2)0.05%；(3)0.025%三种检液浓度。展开后，在紫外光灯下(1)主斑点外的任何杂质斑点，除一个其色度可不深于(2)的斑点外，其余不得深于(3)的斑点。但此类方法检品主斑点与其杂质斑点可能对检测方法有不同的灵敏度，加之两者 R_f 值不同，可能不便比较。

BP丙基硫氧嘧啶原用限度比色法检查“硫脲”，在1981增补本中，该项改名“有

物质”，采用分别点同样量的(1)1%检品；(2)0.01%检品；(3)0.001%硫脲。展开后，在(3)斑点应深于(1)中任何相应的斑点，且(1)的杂质斑点不得深于(2)的斑点。USP 20版增补本Bromocriptinemesylate，将检品与相当于检品浓度1、0.5、0.25%的对照品点样展开后，检品任一杂质斑点其大小、色度不得大于1%的斑点，其余任何斑点不得大于0.5%的斑点，即杂质总和不大于1.5%。采用代用品的如BP溴化吡斯的明片鉴别中，用甲基硫酸新斯的明作对照，最后设后者 R_f 值为1.0时，前者为1.3。

有些品种可能用说明情况来解决，如亚洲药典苍术检查“茅苍术”时，指明在色谱 R_f 值0.5~0.7区间应无绿一灰绿色斑点。EP(1975)桉叶油鉴别，用桉油精对照，展开后，对照品色谱在日光下可见暗棕色斑点， R_f 值约0.5，在紫外光灯下为棕色荧光点，检品色谱其主斑点应与桉油精相应。在日光下 R_f 值0.7处应无胭脂红一棕色斑点，在紫外光灯下应无带绿的棕色荧光点(香茅醛)，其余斑点可能在色谱的上、下1/3处出现。

杂质限度也有用特殊处理来判定，USP奎尼丁(及其制剂)和奎宁(及其制剂)需分别检查二氢奎尼丁和二氢奎宁，就是在展开后，将主斑点、杂质斑点、空白区分别洗脱测定荧光强度，杂质斑点分别不应超过主斑点的1/4和1/9，即以检品中药物与杂质质量间的比值来控制杂质质量。