黄连复方制剂中小檗碱的含量测定研究进展

沈　群　周　萍[1](广州 510515 第一军医大学中医系;[1] 广州 510515 南方医院药剂科)

黄连具有清热解毒、抗菌消炎作用,常与其它中药制成复方制剂应用于临床。小檗碱是黄连中的主要有效成分,测定其含量可作为黄连制剂的质量控制标准之一,并对于研究黄连复方制剂的药理作用、临床疗效等均具有重要意义。现将近年来有关黄连复方制剂中小檗碱的含量测定方法作一综述。

1　紫外分光光度法

紫外分光光度法是中药及其制剂含量测定的一个常用方法,小檗碱属于芳香族六元环吡啶类化合物,具有较强的紫外吸收,故常用此法测定其含量。桂林西瓜霜中盐酸小檗碱的含量测定[1],采用盐酸 - 甲醇(1:100)提取,以氯仿 - 甲醇 - 0.1mol/L 盐酸(1:1:1)为展开剂,在中速新华层析滤纸上展开,各组分分离结果理想,盐酸小檗碱的 R_f 值为 0.40。254nm 紫外灯下剪取黄绿色荧光部分,用 0.05mol/L 硫酸溶液洗脱定容,分光光度计 345nm 波长处测定其吸收值计算含量。该法简便实用,结果准确,无杂质干扰。该文同时用柱层析分离 - 紫外分光光度法进行测定,结果发现后者分离效果及稳定性均较差。但若将柱层析与系数倍率法相结合,则可消除其它组分对测定成分的干扰。如万应锭以甲醇提取,经中性氧化铝柱层析乙醇洗脱,0.05mol/L 硫酸定容,经实验选出波长对 345nm,382nm 和 K = 1.52,在 Shimadzu UV - 260 上测定吸收度,由标准曲线求出样品中盐酸小檗碱的含量[2]。该法属于计算分光光度法之一,尤适于对多组分混合物的分析测定。对于小檗碱直接投料的制剂,用导数分光光度法测定其含量,可不经分离直接消除阴性对照液的干扰,如复方黄连素片中盐酸小檗碱的含量[3]。

2　荧光分光光度法

荧光分析法具有灵敏度高(浓度可低至 10^{-4} μg/ml)、选择性好、试样量少(几十微克或几十微升)等特点,在中药制剂分析中已日益受到重视。如香连丸、左金丸中主药均为黄连,采用薄层导数荧光法测定,只通过波长或求导条件的选择即可消除杂质及共存物的干扰,展开剂用正丁醇 - 冰醋酸 - 水(7:1:2)(该系统中正丁醇每升用 2g NaOH、1g $AgNO_3$ 回流重蒸,冰醋酸重蒸处理,水为重蒸水,薄板先用该展开剂跑空板处理),紫外灯下检测定位,刮斑于具塞离心玻璃管中,加无水乙醇超声振荡、离心,上清液在 650 型 - 60 多功能荧光计上测荧光强度[4]。该法灵敏度很高,要求实验条件比较严格,故用于配制溶液的溶剂、容器均应进行处理后使用。该条件下可同时对黄连中的巴马亭含量进行测定。

3　薄层扫描法(TLC)

薄层扫描法由于检出灵敏,测定快速,已广泛用于中药制剂的定性定量分析。黄连中所含多种生物碱均可在同一薄层板上得到分离,再直接用薄层扫描仪选定波长进行扫描,由回归方程计算出含量。该法简便易行,重现性好,适用于大多数黄连制剂中小檗碱的含量测定。

薄层扫描法用于小檗碱的含量测定，既可用可见光测定（λ = 430nm），也可用紫外反射法测定（λ = 343nm），还可用荧光方式测定（λ = 265nm），通过比较发现用荧光方式测定时峰形对称，信号强而集中，灵敏度高，基线平直，且样品前处理方法简便，在中成药取样量较少的情况下即可准确定量。95 版药典测定黄连中的小檗碱即用薄层荧光扫描定量。

4 高效液相色谱法（HPLC）

用高效液相色谱仪，在选定色谱柱上，以适宜的流动相使黄连制剂中小檗碱和其它成分达到良好的分离，经紫外检测可得峰面积。用内标法或外标法由回归方程计算含量，操作简便、分析快速、灵敏度高、准确性好。由于正相色谱法需要使用大量的有机溶剂作为流动相，离子对色谱法需离子对试剂，两者价格均较昂贵；反相色谱法价格低廉，对常规分析最为适合。用该法测定时，可以乙腈 – SDS – 乙酸为流动相，检测波长 345nm，外标峰面积法定量。

5 流动注射分析法

近年来，随着流动注射分析（FIA）及化学传感器的发展，中药制剂中有效成分的分析有了新的进展。刘万忠[5]等报道了基于小檗碱流通型传感器的电化学检测器用于含小檗碱中药样品的流动注射分析，方法简便快速，结果准确可靠，样品分析速度可达 120 次/h。样品用盐酸 – 甲醇提取，蒸去甲醇，加 TIASB（总离子强度调节液）溶解，以小檗碱流通型传感器作为 FIA 检测器，调整载流流速、进样量，待基线稳定后，即可进样测定，记录峰高电位，根据相应的回归方程，计算样品含量。用该法测定了左金丸、香连丸中盐酸小檗碱的含量。

综上所述，黄连复方制剂中小檗碱的含量测定法主要有分光光度法、薄层扫描法、高效液相色谱法等，其中分光光度法较简单，仪器及试剂均较普及，但对复方制剂处理也比较麻烦。HPLC 分离效率高、速度快、灵敏度高，但仪器昂贵，尚未普及。TLC 分离能力强，点样少，斑点集中，灵敏度高，操作方便，是目前比较理想的分析方法，95 版药典已广泛采用。另外黄连中含有除小檗碱以外的多种生物碱，若用薄层扫描法，只需选择合适的展开剂，即可对多种生物碱同时进行测定[6]。

分析黄连复方制剂中小檗碱含量，都需要前处理过程，溶剂通常用 1% 盐酸 – 甲醇、甲醇、乙醇，也有用 1% 硫酸作为提取溶媒的。提取方法有索氏提取和超声波提取两种，通常认为以液相色谱法分析时采用超声波提取法更简便、快速，且重现性好，适于推广。

小檗碱含于多种植物中，如黄柏、三颗针等，故以该类药材投料的制剂，也可参照以上分析方法进行小檗碱的含量测定。

参考文献

1 迟家平，韩守智．紫外分光光度法测定桂林西瓜霜中盐酸小檗碱的含量．中成药，1991，13(11)：17．

2 吴承云，李树明．双波长系数倍率法测定万应锭中小檗碱的研究．中国药学杂志，1990，25(4)：219．

3 吕慧怡，张洪昌，杨令家，等．二阶导数光谱法测定复方黄加素片中小檗碱含量．中成药，1992，14(4)：16．

4 陶美英，赵金慧．薄层 – 导数荧光分光光度法测定香连丸左金丸中小碱　马巴亭的含量．中草药，1997，28(5)：278．

5 刘万忠，彭文斌，杨纯华．小檗碱电化学检测器在中（成）药流动注射分析中的应用．药学学报，1991，26(4)：315．

6 叶玉兰，赵苹苹，罗泽澜．黄连及其炮制品中 5 种生物碱含量测定．中成药，1996，18(3)：16．

收稿日期：1998 – 04 – 24