

三妙丸中小蘗碱含量的测定

杭州胡庆余堂制药厂 袁 蔼 芝

提要 本文采用双波长薄层色谱扫描仪对三妙丸中的小蘗碱进行含量测定。此法具有检测灵敏度高，测量精度高，分析速度快的优点，可作为一种常规的分析手段。

三妙丸收载于中国药典 85 版一部。由苍术、黄柏、牛夕组成。黄柏中含有多种生物碱，已知的有小蘗碱 (Berberine)、黄柏碱 (Phellodendrine)、药根碱 (Jatrorrhizine)、棕榈碱 (Palmatine)、木兰花碱 (Magnoforine)

等。一般认为，小蘗碱为黄柏的主要有效成分之一，故我们将小蘗碱含量的多少作为三妙丸的内控质量指标。

对小蘗碱的含量测定国内外均有报导，采用的方法各不相同^[1-2]。83 年我们曾采用

薄层一比色法测定了三妙丸中小蘗碱的含量,得到了较满意的结果。但此法在测定中需要将斑点刮下洗脱,手续繁杂、费时,并难免在洗脱中引入误差。近年来发展起来的薄层色谱扫描分析法直接在薄层板上对待测组分进行定量分析,消除了上述弊病。特别是用微处理机自动控制,处理数据的双波长薄层色谱扫描仪的出现,进一步提高了方法的灵敏度、精度和自动化程度,并大大地缩短了测试时间。本文介绍用CS-930型扫描仪对三妙丸中小蘗碱含量的测定方法。

实验与结果

一、仪器与药品

仪器:日本岛津CS-930型双波长薄层色谱扫描仪。

涂铺器:瑞士CAMAG涂铺器。

盐酸小蘗碱标准品:武汉市药检所提供(由高效液相制备,纯度为99.2%)。

硅胶G:青岛海洋化工厂薄层层析规格。

二、测定方法

1. 标准液的制备:精密称取盐酸小蘗碱标准品25mg于25ml量瓶中,用无水乙醇定容,备用。

2. 样品液的制备:精密称取三妙丸6g,置索氏抽提器中,加无水乙醇25ml于水浴中抽提至无色(约8小时),提取液转移至25ml量瓶中,用无水乙醇定容,备用。

3. 薄层层析:用10g硅胶G与30ml0.2% CMC-Na溶液的比例混合调成糊状,用涂铺器铺板(规格20×20cm),板厚0.3mm,室温晾干,105℃活化1小时。点样1μl于薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)展开,各斑点在自然光和紫外光灯下均清晰可见, R_f值约为0.5。薄层层离后挥去溶剂,备用。

4. 扫描条件:

扫描方式:反射锯齿法。

波长的确定:对样品的斑点进行光谱测

定,以样品在紫外区的最大吸收波长342nm为样品波长,样品的不吸收波长700nm为参比波长。详见图1。

峰检出方式:面积法。

狭缝,(宽度×高度):1.2×1.2mm。

散射系数: SX = 3。

灵敏度: MED = "2"。

背景校正: "ON"。

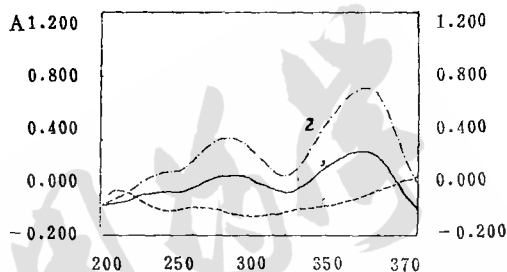


图1 薄层色谱斑点的吸收光谱

1. 空白吸收光谱 2. 标准吸收光谱 3. 三妙丸吸收光谱

5. 扫描测定:将三妙丸样品的薄层层析板按上述条件进行扫描。求得分离度为:

$$R = 1.177 \frac{l_2 - l_1}{b_1 + b_2} = 1.98$$

式中: $l_2 - l_1$ 为两峰间的距离。

b_1 、 b_2 分别为未知成分和小蘗碱的半峰宽。

由此可见,两种组分属完全分离。

6. 线性试验:将标准液制成每μl含0.1、0.3、0.5、0.7μg浓度的梯度系列,分别点样1μl于薄层板上,按样品的测定条件扫描,结果见图2。用最小二乘法对标准液浓度和色谱吸收峰面积进行回归分析得回归方程为:

$$A = 3196C + 784$$

式中: A: 色谱吸收峰面积

C: 标准液浓度(μg/μl)

并计算得到A和C的相关系数 $r = 0.9983$ 。故两者在0.1~0.7μg之间成线性关系。

7. 稳定性试验:按样品测定的条件采用外标两点法对同一批号的样品测定10次结

果见表 1。得含量百分比的平均值为0.303，标准偏差±0.0008，CV=0.27%。

表 1 同批三妙丸十次测定结果

取 样 量 (μg)	测得小蘗碱的量 (μg)	含 量 (%)
120	0.365	0.304
120	0.364	0.303
120	0.362	0.302
120	0.365	0.304
120	0.363	0.303
120	0.363	0.303
120	0.362	0.302
120	0.363	0.302
120	0.364	0.304
120	0.364	0.303

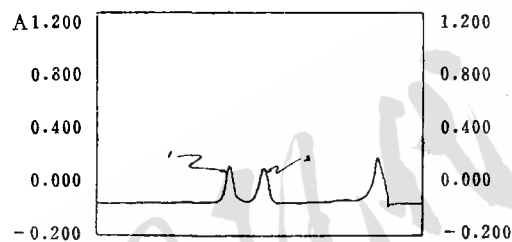


图 2 三妙丸薄层扫描图谱

1. 未知成分 2. 三妙丸中小蘗碱成分

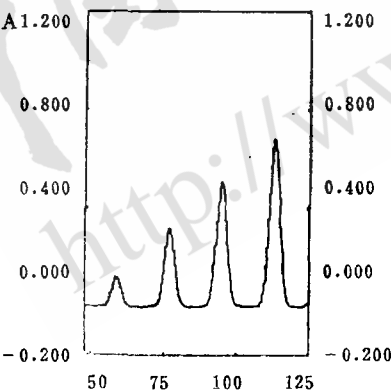


图 3 三妙丸标准曲线扫描图谱

VO	YPOS	AREA	%
1	58.5	3614.234	6.6
2	77.5	10660.55	19.6
3	94.5	17285.75	31.8
4	114.5	22712.20	41.8
TOTAL		54272.73	

三、含量测定结果

按上述方法对本厂 4 个批号的三妙丸样品进行扫描测定。结果见表 2。

四、回收率试验

分别精密称取一定量的原料(苍术、牛夕)，加入盐酸小蘗碱标准品 12mg，按样品液的制备方法制备、点样、展开、并进行扫描测定，结果见表 3。

表 2 三妙丸含量测定结果(二次平均值)

批 号	小 蘗 碱 含 量 (%)
800109	0.227
810624	0.126
820311	0.223
830130	0.303

表 3 模拟三妙丸中小蘗碱的回收率试验

加入标准品量 (μg)	测得小蘗碱量 (μg)	回 收 率 (%)
0.240	0.235	97.9
0.240	0.237	98.6
0.240	0.232	96.7
0.240	0.234	97.5

讨 论

1. 从实验可知，本法能将三妙丸中小蘗碱与其他成分有效分离，扫描图谱清晰，重视性好，方法可靠，是一种精确快速的测定方法。

2. 从扫描图谱和含量测定的结果分析，不同批号的三妙丸中小蘗碱含量差异较大，最低0.13%，最高0.30%，可能是由于黄柏的产地不同、采收季节不同及质量 优 劣 引起，也可能是工艺因素引起。

参 考 文 献

- [1] 黑野吾市，药学杂志(日) 85、262~266，1965
- [2] 中国医学科学院药物研究所：《薄层层离及其在中药中的应用》，P 126、科学出版社、1982