

分光光度法测定马钱子中土的宁含量时 共存组分的干扰考察方法

北京中医药大学 (100029) 张兰珍* 张 辉

摘 要 建立了分光光度法测定药材中单一成分含量时,共存组分干扰的考察方法。考察了药典载马钱子中土的宁的含量测定方法,表明共存物的干扰占其含量的 50% 以上。并用薄层层析-分光光度法和药典法测定了土的宁的含量,结果与考察方法一致。

关键词 分光光度法 马钱子 土的宁 干扰考察方法

分光光度法是测定药材及制剂中成分含量的常用方法之一,由于吸光度具加和性,共存组分对被测成分的测定干扰较大。虽然在制剂中通过配制阴性液考察干扰情况,但经常没有考虑被测药材本身共存组分的干扰^[1-4]。即使有些单味药的测定考虑了本身共存组分的干扰,选用了双波长法、导数光谱法等消除干扰,但干扰组分的选择经常不能代表其全部的干扰物^[5-6]。中国药典 1995 年版载马钱子中土的宁的含量测定方法,是以马钱子碱作为干扰成分建立的双波长测定法,并没有考虑除土的宁与马钱子碱以外的其他许多成分,使测定结果偏高。我们建立了分光光度法测定单味药单一成分含量时,共存组分干扰的考察方法,使分光光度法测定药材及制剂中成分含量时,结果更为准确。

1 仪器与试药

紫外-可见分光光度计:日立 UV-2000(日本);马钱子 *Strychnos nux-vomica* L. 经本院鉴定室陈玉婷同志鉴定,由本院炮制室提供;硅胶 GF₂₅₄由青岛海洋化工厂生产;土的宁对照品购自中国药品生物制品检定所;试剂均为分析纯

2 共存干扰组分的制备及药典测定方法的考察

2.1 对照品溶液的制备:精称土的宁对照品 3 mg,用甲醇定容至 10 mL

2.2 样品液的制备:取马钱子粉约 1.6 g,精密称定,加氯仿 20 mL、浓氨水 0.3 mL 于锥形瓶中,超声提取约 40 min,过滤,回收氯仿至干,无水乙醇转移定容至 10 mL 容量瓶中备用。

2.3 共存干扰组分的制备及考察方法:取自制硅胶 GF₂₅₄板(硅胶 GF₂₅₄粉 4.5 g,加水适量,铺制成 15 cm×15 cm 的硅胶板,105℃活化 30 min)刮制成

3个相同的 5 cm×5 cm 的楔形板 1 板 2 板 3(图 1)。在板 1 的狭部点土的宁对照品 20 μL,板 2 的狭部点样品液 100 μL,板 3 不点样。在层析缸中用展开剂(S₁):乙醚-甲醇(9:1)上行展开 10 cm,取出晾干,再用 S₂ 乙醚-甲醇-氨水(7:4:0.2)上行展开 8 cm,取出,挥尽展开剂。在荧光灯下,刮取板 2 的土的宁部分硅胶作阳性 a,板 3 与土的宁相同位置、相同面积的硅胶作阳性参比 a'。刮取板 2 前沿以下的剩余硅胶作阴性 b,板 3 前沿以下的剩余硅胶作阴性参比 b'。用氯仿分别将 4 部分硅胶洗脱 3 次,过滤,滤液浓缩至约 5 mL,置分液漏斗中,以 0.5 mol/L 硫酸萃取 2 次,每次 4 mL,萃取液均以 0.5 mol/L 硫酸溶液预先湿润的滤纸滤入 10 mL 容量瓶,并以 0.5 mol/L 硫酸溶液洗涤滤器,洗液并入容量瓶,定容。在 UV-2000 上测阳性 a 和阴性 b 在 190~340 nm 的紫外吸收光谱(图 2)。由紫外吸收曲线看出,阴性与阳性液曲线几乎重合,在药典载双波长 262 nm,300 nm 处测阳性与阴性液的吸光度差 $\Delta A_{262} = 0.061$, $\Delta A_{300} = 0.031$,阴性约占阳性的 50%。

3 TLC-UV 法与药典法含量测定比较

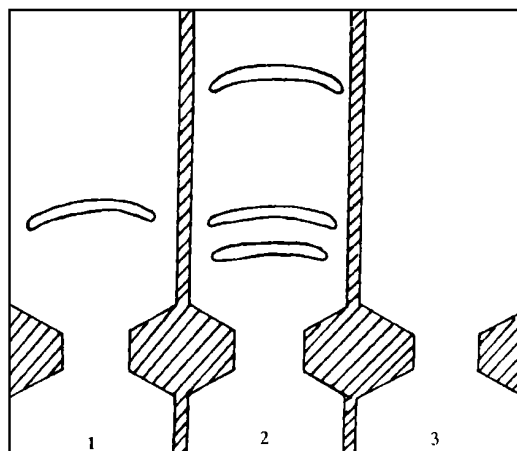
3.1 样品液的制备:精密称取马钱子粉约 0.8 g,共 4 份,置 100 mL 带塞锥形瓶中,仿照 2.2 项下制备样品液。

3.2 标准曲线的制备:精密称取土的宁对照品 3.17 mg,用无水乙醇溶解,定容于 10 mL 容量瓶。精取 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mL 分别置 10 mL 容量瓶中,用乙醇稀释至刻度,在 254 nm 处测吸光度,以吸光度为纵坐标,对照品浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为:

$$Y = 0.0346X - 0.0028b, r = 0.9998, \text{线性范围}$$

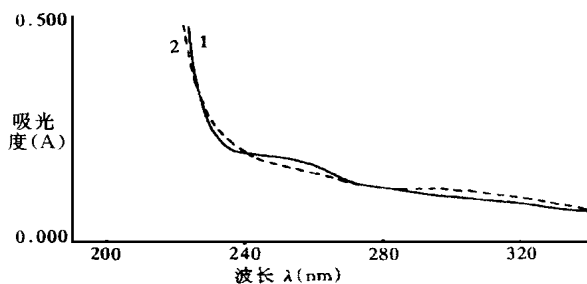
* Address: Zhang Lan-zhen, Beijing University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Beijing

张兰珍 1986 年毕业于北京中医药大学中药学院,留中药化学室工作,又在本校获硕士学位。现任副教授,主持国家自然科学基金、国家新药基金项目、教育部、中医管理局研究项目 5 项,主要从事中药和中药制剂质量标准及中药活性成分的研究。



1-土的宁 2-马钱子 3-空白

图1 马钱子的 TLC图



1-土的宁(阳性液) 2-共存组分(阴性液)

图2 马钱子中土的宁与其共存组分的紫外吸收图谱

1. 58~ 25. 36 $\mu\text{g}/\text{mL}$

如上法精取 6 份不同量土的宁对照品置 10 mL 容量瓶中,用 0.5 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度,分别在 262 nm, 300 nm 处测吸光度,以 $\Delta A(A_{262} - A_{300})$ 为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,回归方程 $\Delta A = 0.296 0X - 0.001 90$, $r = 0.999 8$,线性范围

1. 58~ 25. 36 $\mu\text{g}/\text{mL}$

3.3 薄层回收率试验:精密吸取标准品溶液 400 μL ,点在硅胶 GF_{254} 板上 (5 cm $\times$ 15 cm),依 2.2 展开后挥干,刮取土的宁部分硅胶及基线下方相同面积空白硅胶分别用 10 mL 氯仿洗涤 3 次,过滤,挥干溶剂,乙醇溶解定容至 10 mL 容量瓶中,在 254 nm 处测吸光度,由回归方程求出土的宁含量,结果平均回收率为 (99.9 $\pm$ 2.8)% ($n = 4$)

3.4 两种含量测定方法比较:在硅胶 GF_{254} 板 (5 cm $\times$ 15 cm) 上,点样品液 60 μL ,按 3.3 方法测马钱子中土的宁含量,结果见表 1 同一批马钱子粉用药典法测定其含量,结果高出 51.9% (表 1),说明药典法中没有完全消除共存物的干扰,与考察结果一致

表 1 两种测定方法结果比较 ($n = 4$)

方法	平均含量 (%)	RSD (%)	共存物所占比例 (%)
TLC-UV	0.79	3.0	0
药典法	1.20	3.0	51.9

4 讨论

4.1 本实验表明用分光光度法不经分离直接测定药材中单一成分含量时,不能以某单一成分作为干扰物,而应以除去被测成分的其它所有成分作为共存干扰组分进行测定条件的选择,才能使测定结果更准确

4.2 中药本身除被测成分以外的其他共存干扰物能使马钱子测定误差达到 50%,所以不经分离用分光光度法直接测定中药制剂时,不能用空白群药进行测定条件的选择,应以除去被测成分或以其为主的所有其他物作为阴性液,包括被测药本身所含的共存干扰物,进行测定条件的考察,使测定方法更为科学。

4.3 分光光度法中的双波长法、三波长法、导数光谱法等计算分光光度法,要求干扰组分相对稳定,测定结果才能准确,而目前所通用的空白群药与被测制剂的原料药在品种、产地、采收季节、加工方法等方面存在一定差异,所以用空白群药选择出的测定条件,不能代表被测制剂的真实情况。本实验所建立的共存干扰组分的制备方法,用于制剂中就是将测定制剂用薄层洗脱方法将被测成分或以其为主的成分除去,剩余所有组分作为阴性液,使阴性液不仅与被测制剂的原料药在品种、炮制等方面保持一致,并且在辅料和加工等方面也都一致,同时还考虑了被测药材本身所含的干扰成分,比目前的空白群药更科学、准确。

4.4 由于本方法是用薄层层析制备的,所以薄层效果好坏直接影响刮取的量是否准确,因此建议最好用不同的层析条件进行展开、比较、测定,使共存干扰组分或阴性液的制备更接近真实情况。

4.5 有关阴性液不同的制备方法对计算分光光度法测定制剂的影响,我们将继续报道

参考文献

- 1 张玲,等.中草药,1997,28(2): 86
- 2 杨桦,等.中国中药杂志,1991,16(8): 474
- 3 龚青,等.中国中药杂志,1997,22(8): 483
- 4 娄红祥,等.中国中药杂志,1996,21(2): 97
- 5 龙沛霞,等.中草药,1996,27(9): 531
- 6 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.1995 38

(1999-02-05 收稿)