

薄层扫描法测定前列通片中盐酸小檗碱的含量

邓海鸣¹, 汪锦飘^{2*}

(1. 广州中一药业有限公司, 广东 广州 510130; 2. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东 广州 510140)

前列通片是国家中药保护品种, 主要含有黄柏、黄芪、车钱子等。具有清热解毒、清利湿浊、理气活血、消炎止痛、祛瘀通淋的功效。用于急性前列腺炎、前列腺增生。黄柏具有清热燥湿、泻火解毒的功效, 为方中主药, 其主要活性成分为小檗碱。本实验采用薄层扫描法对盐酸小檗碱的含量进行了测定, 为前列通片的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

瑞士 CAMAG TLC Scanner 3 薄层色谱扫描仪, Mettler AE100 万分之一天平, 手动点样器(瑞士 CAMAG Nanomat ④), 自动薄层板涂布器(瑞士 CAMAG); 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 713-9003), 前列通片(广州中一药业有限公司), 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制: 精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加无水乙醇制成 0.05 mg/mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的配制: 取前列通片 20 片, 研成细粉, 称取样品约 1 g, 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 加盐酸-甲醇(1:50)溶液适量, 超声处理 30 min, 取出静置, 加盐酸-甲醇(1:50)溶液至刻度, 滤过。弃去初滤液, 精密吸取续滤液 10 mL, 水浴蒸至约 1 mL, 加入 1 g 中性氧化铝拌匀, 蒸干, 置于中性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径 15 mm)上, 用无水乙醇 60 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.3 缺黄柏阴性对照溶液的配制: 按处方量取缺黄柏的各药材, 按工艺流程制成干膏, 照 2.2 项下方法制备阴性对照溶液。

2.4 薄层色谱条件: 薄层板: 硅胶 G 板(20 cm × 10 cm); 展开方式: 上行展开; 展距: 8 cm; 展开剂: 苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨水(6:3:1.5:1.5:0.5); 预饱和条件: 另槽加入等体积的浓氨水试液, 预平衡 15 min。

2.5 薄层扫描条件: 荧光扫描, 光束狭缝为 6.00

mm × 0.20 mm, 灵敏度中等, 激发波长为 366 nm。

2.6 空白试验: 取供试品溶液和缺黄柏的阴性对照溶液, 依法扫描测定, 结果其他组份对盐酸小檗碱的测定无干扰。

2.7 标准曲线及线性范围: 精密称取盐酸小檗碱对照品 0.53 mg 于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 1, 2, 3, 4, 5 μL 分别点于同一薄层板上, 依法展开, 取出, 晾干, 按拟定的扫描条件测定各斑点的峰面积值。以峰面积积分值对点样量进行线性回归, 得回归方程: $Y = 229.902 + 895.358 X$, $r = 0.9988$ 。结果表明盐酸小檗碱在 0.053~0.265 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.8 精密度试验

2.8.1 同板精密度试验: 精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液 2 μL 点于同一薄层板上 5 个点, 展开, 取出, 晾干, 测定盐酸小檗碱峰面积, 结果 RSD = 0.46%。

2.8.2 异板精密度试验: 精密吸取同一盐酸小檗碱对照品溶液 1 μL, 分别点于 5 块不同的薄层板上, 依法测定盐酸小檗碱峰面积, 结果 RSD = 2.86%。

2.9 稳定性试验: 精密吸取盐酸小檗碱对照品溶液 2 μL, 点于薄层板上, 依法展开, 扫描测定盐酸小檗碱峰面积, 每隔 1 h 扫描测定 1 次, 结果 RSD = 1.58% ($n = 6$), 表明对照品溶液在 5 h 内稳定。精密吸取供试品溶液 2 μL, 点于薄层板上, 依法展开, 扫描测定盐酸小檗碱峰面积, 每隔 1 h 测定 1 次, 结果 RSD = 2.26%, 表明供试品溶液在 5 h 内稳定。

2.10 重现性试验: 取同一批号样品, 共取 5 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 依法进行扫描, 测定盐酸小檗碱峰面积, 结果盐酸小檗碱含量为 0.2826 mg/g, RSD = 2.28%。

2.11 回收率试验: 采用加样回收法。取已测得盐酸小檗碱含量的样品粉末(含盐酸小檗碱约 0.169 mg) 共 5 份, 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 分别精密加入盐酸小檗碱对照品溶液适量(含盐酸小檗碱约 0.179 mg), 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 扫描测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.73%,

RSD= 2.27%。

2.12 样品测定:取 6 批样品,按供试品溶液制备方法操作,依法扫描测定,结果见表 1。

表 1 前列通片中盐酸小檗碱测定结果 (n= 6)

Table 1 Results of berberine hydrochloride in Qianlietong Tablet (n= 6)

批号	盐酸小檗碱/(mg·g ⁻¹)
D00112	0.338 7
E00007	0.497 1
E00017	0.294 7
E00018	0.291 6
099R	0.572 6
102R	0.727 4

3 讨论

3.1 前列通片原标准简单,只有薄层色谱鉴别,本实验采用薄层扫描法对前列通中盐酸小檗碱含量进行了测定。从结果来看,本方法简单、准确、稳定,重现性好,为前列通片质量标准的提高提供了依据。

3.2 曾试用盐酸-乙醇(2:100)溶液提取,结果杂质较多,杂质的去除难得到满意的效果,且盐酸小檗碱的量较用盐酸-甲醇(2:100)溶液提取少。而比较不同浓度的盐酸-甲醇溶液(5:100、10:100、15:100)进行提取,发现盐酸-甲醇(2:100)溶液提取最完全,且回收率较好。

新疆紫草中多糖的超声提取工艺优选

乔秀文¹, 兰 卫², 李洪玲¹, 曾宪佳¹, 石志强^{1*}

(1. 石河子大学师范学院, 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832003)

紫草根药用,含多种萘醌类化合物——紫草素及其衍生物,具有显著的抗生育、抗炎、抗肿瘤、杀菌、抗病毒、保肝和免疫调节等作用。紫草中还含有多糖。紫草多糖具有抗病毒活性,能够激活巨噬细胞的吞噬功能,增强 T 淋巴细胞的数量和活性,抑制 DFH 强度,促进 T 淋巴细胞的免疫应答作用,具有促进机体非特异性免疫和特异性的细胞免疫作用。为促进紫草多糖的应用,本实验采用超声波法对紫草多糖进行提取,以期找出超声法提取紫草多糖的最佳工艺条件。

1 仪器与试剂

722 光栅分光光度计(上海精密科学仪器厂), DL-360A 超声波清洗器(上海之信仪器厂), 电子天平(北京赛多利斯天平仪器厂), HH-1S 恒温水浴锅, DZKW-1C 电子恒温水浴(北京光明医疗仪器厂)。

新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston. 经石河子大学药学院生药教研室王琪、成玉怀老师鉴定,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确立:根据预试,影响紫草多糖超声提取率的主要因素有超声提取时间、次数和固液比等,选择的因素水平见表 1。

2.2 超声波法提取紫草多糖:准确称取紫草干燥粉

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素		
	A 超声时间/min	B 超声次数/次	C 固液比/(g·mL ⁻¹)
1	15	1	1:9
2	25	2	1:12
3	35	3	1:15

末 33.330 0 g, 分别用不同倍量的水浸不同时间, 超声不同时间、次数后, 抽滤, 滤液减压浓缩至 100 mL, 加 4 倍量的无水乙醇沉淀, 放置 12 h 以上, 抽滤, 沉淀干燥称重, 即得多糖粗提物。将多糖粗提物分别加入无水乙醇、丙酮各 50 mL 反复抽吸, 抽滤, 沉淀物用 100 mL 蒸馏水溶解, 放置后, 离心, 取上层清液再加入 4 倍量无水乙醇沉淀, 抽滤, 沉淀物在 60 °C 烘干至恒重, 即得多糖提取物。

称取相同质量的各次提取的多糖提取物, 置 50 mL 量瓶中, 用水溶解后分别加入 6 mL 苯酚溶液和 30 mL 浓硫酸, 30 °C 恒温 30 min 后, 冷水浴冷却至室温, 加水至刻度, 在 490 nm 处测定吸光度, 以不加样为空白, 测定结果见表 2, 数据方差分析见表 3。

2.3 验证试验:称取紫草 100 g, 加入蒸馏水 900 mL, 于 20 °C 下恒温提取 25 min, 滤过后滤渣再次分别加入 600 mL 蒸馏水, 恒温超声提取 1 次。合并两次提取液, 测定紫草多糖吸光度, 重复 3 次, 求得吸光度为 0.683。

* 收稿日期:2004-01-04