

• 论著 •

薄层扫描法测定蛇胆川贝液 中贝母甲素、贝母乙素含量

张兰珍 樊晓霞 郭亚健

(北京中医药大学中药化学室 北京 100029)

摘要 应用薄层扫描法测定了蛇胆川贝液中贝母甲素、贝母乙素的含量,平均回收率分别为 97.48%, 99.25%。并对其它一些贝母制剂的贝母甲素,贝母乙素进行了薄层检识。

关键词 蛇胆川贝液 贝母甲素 贝母乙素 薄层扫描

Determination of peimine and peiminine in Shedan Chuanbei Oral Liquid by TLC Scanning

Zhang Lanzhen, Fan Xiaoxia, Guo Yajian

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 100029)

Abstract: Determination of peimine and peiminine in Shedan Chuanbei Oral liquid was carried out with Shimadzu CS-9000 TLC Scanner. The average recoveries of the above two compounds from the samples were 97.48% and 99.25%. Thin layer chromatography was performed to identify peimine and peiminine in the other preparations containing *bulbus fritillariae thunbergii* in this study.

Key words: Shedan Chuanbei oral liquid, peimine, peiminine, TLC scanning

中药贝母为百合科贝母属植物的干燥鳞茎,具有清热润肺、化痰止咳的功效。其中贝母甲素和贝母乙素有明显的镇咳、镇静作用^[1]。贝母单一生物碱的含量测定主要有高效液相法^[2],和薄层扫描法^[3~5]。由于贝母生物碱含量很少,在千分之一或万分之一^[4,6],所以对复方制剂中贝母单一生物碱的含量测定至今尚未报道。

我们对贝母制剂中有镇咳作用的有效成分贝母甲素、贝母乙素的含量测定进行了探讨,采用双波长薄层扫描法测定了蛇胆川贝液中贝母甲素、贝母乙素的含量,并对其它一些贝母制剂中的贝母甲素,贝母乙素的存在进行检识,为贝母制剂的质量控制提供了依据。

1 仪器与药品

CS-9000 薄层扫描仪(日本岛津),硅胶 G 预制板 10×10cm(青岛海洋化工厂)。贝母甲素、贝母乙素标准品(卫生部药品生物制品检定所),蛇胆川贝液(广州潘高寿药厂,广州潘高寿药业股份有限公司,940818A),川贝枇杷露(广州潘高寿药业股份有限公司,951215A),清肺抑火化痰丸(北京中药二厂,京 Q/YS-3-9505019),小儿牛黄散(北京中药二厂,京 Q/YS-3-9104044,京 Q/YS-3-9310023),养阴清肺膏(北京中药二厂,京 Q/YS-3-9101132),桔红丸(北京中药三厂,京 Q/YS-3-9503083)试剂为 AR 级。

2 实验

2.1 薄层层析条件的选择 样品液的制备:

精取蛇胆川贝液 20.0ml, 氨水调至 pH 9~10, 加氯化钠 2g, 氯仿萃取 (10ml×7, 8ml×5), 合并氯仿液, 回收至干, 甲醇定容于 1ml 容量瓶中, 摇匀, 备用。药材对照液的制备: 取川贝母 5g, 粉碎过 40 目筛, 氨水 2.0ml 浸 1hr, 乙醚-氯仿-无水乙醇 (25:8:2.5)^[6] 80ml 超声波提取 0.5hr。过滤, 回收溶剂至干, 甲醇定容于 2.0ml 容量瓶中, 摇匀、备用。标准品溶液的制备: 精称贝母甲素、贝母乙素标准品 2mg, 甲醇定容于 2ml 容量瓶中, 其浓度分别为 1.17mg/ml, 0.98mg/ml。

在薄层板上点样品液 15 μ l, 对照药材 6 μ l, 贝母甲素、贝母乙素各 1 μ l, 选择三种溶剂系统展开: 溶剂 (I) 环己烷-乙酸乙酯-二乙胺 (6:4:1) 二次展开; 溶剂 (II): 氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水 (30:40:20:10) 10C 以下取下层液; 溶剂 (III) 乙酸乙酯-甲醇-浓氨水 (17:2:1)。溶剂系统 (I)、(II) 用硅胶 G 预制板, (III) 用 2% NaOH 铺制的硅胶板。展距 8cm, 挥干溶剂, 系统 (I) 需 105C 烘 1.5hr, 喷改良碘化铋钾显色。三种溶剂系统展开后, 贝母甲素、贝母乙素均为单一斑点, 本实验选用层析效果最好的溶剂系统 (I) 为展开剂, 结果见图 1。

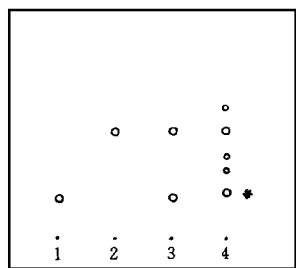


图1 蛇胆川贝液的 TLC 图

1 贝母甲素 2 贝母乙素 3 对照药材 4 蛇胆川贝液
※制剂中贝母甲素 Rf 值稍大于对照品见讨论 3.2

2.2 扫描条件的选择 样品用溶剂系统 (I) 展开后, 105C 烘 1.5hr, 改良碘化铋钾自动喷雾显色, 在 CS-9000 扫描仪上进行光谱测定, 选最大吸收为测定波长 $\lambda_s = 500\text{nm}$, 无吸收处为参比波长 $\lambda_R = 650\text{nm}$ 。扫描测定时用反射法, 双波长, 钜齿扫描, $S_x = 3$ 。

2.3 标准曲线的制备 在同一块硅胶 G 板上分别点贝母甲素、贝母乙素标准品 (浓度同上), 各 1、2、3、4、5 μ l 展开, 显色、扫描、测定峰面积, 以峰面积对点样量 (μg) 做图, 得两条不过原点的直线, 回归方程分别为: 贝母甲素 $Y = -14799.76 + 24162.14x$ $r = 0.9997$, 线性范围 1.17~5.85 μg , 贝母乙素: $Y = -14199.058 + 51782.826x$ $r = 0.9997$, 线性范围 0.98~4.90 μg 。

2.4 精密度试验 在同一块板上分别点贝母甲素、贝母乙素标准溶液 4 μ l 各五个点, 展开、显色、扫描测定峰面积, 贝母甲素 $\bar{A} = 67596.114$ $RSD = 1.58\%$, 贝母乙素 $\bar{A} = 96918.071$ $RSD = 0.67\%$ 。

2.5 稳定性试验 精密点贝母甲素、贝母乙素标准溶液各 4 μ l 展开, 显色, 扫描测定峰面积, 结果表明在 4 小时内稳定, 见图 2。

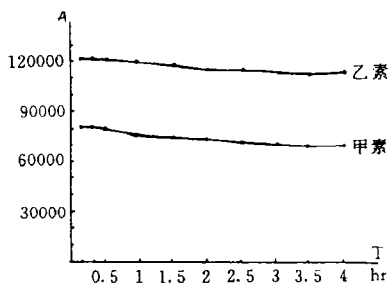


图2 贝母甲、乙素稳定性图

2.6 提取条件的考察 取蛇胆川贝液 20.0ml, 加 NaCl 2g, 氨水碱化至 pH9~10, 以 CHCl_3 萃取 (10ml×7, 8ml×5) 至 11~12 次, 经碘化铋钾显色反应及加样回收率都表明萃取完全, 故萃取次数为 11~12 次。

2.7 样品测定 精密吸取蛇胆川贝液 (批号为 940818A) 三份, 每份 20.0ml, 以下操作同“2.1”项下样品液的制备。在薄层板上点样品液 8 μ l, 贝母甲素标准品溶液 1 μ l, 4 μ l 各两点; 贝母乙素标准品溶液 1 μ l, 3 μ l 各两点。展开, 显色, 扫描测定峰面积, 每个斑点测三次, 求平均值, 外标两点法计算含量, 结果见表 1。

表 1 样品中贝母甲乙素的含量

样品	\bar{A} 样	\bar{A} 标 1	\bar{A} 标 2	含量($\mu\text{g/ml}$)	平均($\mu\text{g/ml}$)	RSD
1 _甲	17902.26	12766.75	139921.46	8.23		
2 _甲	17174.95	12207.29	108938.85	8.46	8.38	1.52%
3 _甲	16927.98	11877.32	112388.00	8.44		
1 _乙	31516.58	11441.98	66902.64	4.25		
2 _乙	25434.66	19090.12	39037.74	4.03	4.13	2.70%
3 _乙	40041.41	14625.46	90654.94	4.11		

2.8 回收率的测定 精称贝母甲素、贝母乙素标准品各 4mg、2mg, 氯仿定容于 5.0ml 容量瓶中摇匀。从中各吸取 1.0ml 溶液, 用氯仿分别定容于 100.0ml 容量瓶中摇匀, 所得贝母甲素、贝母乙素浓度分别为 8.77 $\mu\text{g/ml}$ 、4.00 $\mu\text{g/ml}$ 。精密吸取蛇胆川贝液

(940818A)10ml 各四份, 精密加入上述标准溶液各 10ml, 氨水碱化至 pH9~10, 加 NaCl1g, 以氯仿萃取(5ml \times 7, 4ml \times 5), 合并氯仿液, 回收至干, 甲醇定容于 1ml 容量瓶中摇匀, 含量测定同“2.7”项下, 结果见表 2。

表 2 贝母甲素、乙素回收率

标号	取样量 ml	加入量 ml	样品含量 $\mu\text{g/ml}$	测得量 $\mu\text{g/ml}$	回收率 %	平均 %	RSD %
甲素	1	10	8.38	17.05	98.81	97.48	1.80
	2	10	8.38	17.08	99.16		
	3	10	8.38	16.82	96.19		
	4	10	8.38	16.78	95.74		
乙素	1	10	4.13	8.21	102.00	99.25	2.48
	2	10	4.13	8.14	100.25		
	3	10	4.13	8.07	98.50		
	4	10	4.13	7.98	96.25		

2.9 其它制剂的检识 由于贝母甲素、贝母乙素在生药中含量很低, 我们选择了在处方中贝母含量较高的几种贝母制剂进行检测, 方法如下: 清肺抑火化痰丸 48.5g, 粉碎过 40 目筛; 养阴清肺膏 51.5g, 硅藻土分散; 桔红丸 3 丸(18g) 硅藻土分散; 小儿牛黄散(91 年)5.75g, 这四种制剂均以氨水(25:1)浸 1hr, 混合溶剂乙醚-氯仿-无水乙醇(25:8:2.5)^[6]冷浸 48hr。过滤, 回收溶剂至干, 甲醇 1ml 溶解备用。川贝枇杷露及蛇胆川贝液的处理同“2.1”项下样品液的制备。

将六种样品液点样, 以三种展开剂(同 2.1)展开, 结果见图 3、4、5。由图可知, 清肺抑火化痰丸、养阴清肺膏、桔红丸及川贝枇杷露的贝母甲素、贝母乙素未检出, 而小儿牛黄散和蛇胆川贝液可检出。但买来的批号为 93 年的小儿牛黄散在相同条件下却检不出贝母甲素、贝母乙素, 故本实验只选择了蛇胆川贝液测定其含量。

3 讨论

3.1 由于贝母生物碱在生药中含量较低, 所以在制剂中的含量测定较困难。贝母原药材

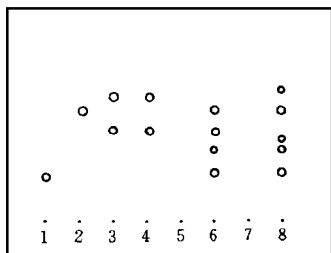


图3 展开剂(I)的TLC图

- 1. 贝母甲素 2. 贝母乙素 3. 清肺抑火化痰丸
- 4. 养阴清肺膏 5. 桔红丸 6. 小儿牛黄散
- 7. 川贝枇杷露 8. 蛇胆川贝液

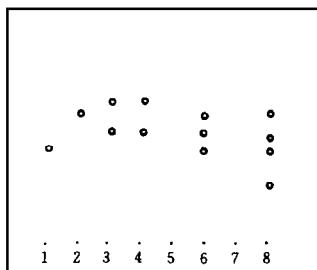


图4 展开剂(II)的TLC图
点样顺序同图3

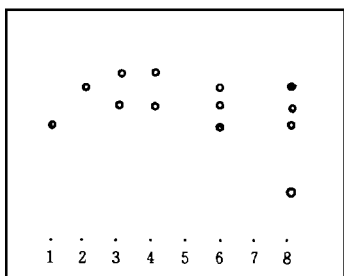


图5 展开剂(III)的TLC图
点样顺序同图3

点 R_f 值总偏高于标准品的 R_f 值,为了确定此斑点是否贝母甲素还是贝母甲素因样品处理过程中加热发生了变化或此斑点为其他成分,做了以下实验。配制贝母甲素标准品的氯仿液,将其加热挥干,甲醇溶解。在同一块薄层板上,点①未加热的贝母甲素标准品溶液;②加热后的贝母甲素标准品溶液;③未加热的贝母甲素标准溶液加样品液;④加热后的贝母甲素标准溶液加样品液;⑤样品液。展开、显色,见图6,由层析结果可知:加热与未加热的贝母甲素标准品其 R_f 值相同,说明其 R_f 值的变化并不是由加热引起的。样品液及样品液加未加热的标准品和加热过的标准品,其贝母甲素的 R_f 值都比单一的贝母甲素标准品的 R_f 值偏大,且在与贝母甲素标准品 R_f 值一致的位置上无斑点,说明贝母甲素在蛇胆川贝液中因其它成分的存在,其 R_f 值比纯品 R_f 值要稍大些。

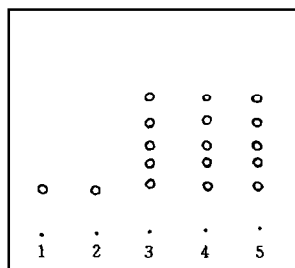


图6 贝母甲素加热前后的薄层色谱图

- 1. 未加热的贝母甲素 2. 加热过的贝母甲素
- 3. 未加热的贝母甲素标准液加样品液 4. 加热后的贝母甲素标准液加样品液
- 5. 样品液

参考文献

- [1]钱伯初等. 药学学报 1985;20(4): 306
- [2]晁若冰等. 药学学报 1993;28(9): 705
- [3]阚良寿等. 中草药 1984;15(8): 30
- [4]马长清等. 中草药 1991;22(10): 477
- [5]沙振方等. 中药材 1988;11(1): 35
- [6]李清华等. 中草药 1993;24(7): 351

(收稿:1996—07—22)

来源复杂,种类颇多,化学成分及其含量各不相同,同样的处方因所投贝母原料药不同,造成各种制剂因批号不同,生物碱的种类和含量不同,所以中药制剂的质量控制应首先从原料药着手。

3.2 蛇胆川贝液薄层图谱中,贝母甲素的斑