

利用薄層層析斑點掃描法測定黃連、黃蘗及其製劑中小蘗鹼之含量

鄭建詒 王昭昭 劉宜祝 劉芳淑

摘要

小蘗鹼 (berberine) 在藥理上具有苦味健胃、殺菌、解熱、消炎等作用。含小蘗鹼的中藥材有黃連及黃蘗等，歷年來已有中外學者多人從事於此等藥材中小蘗鹼之定性及定量法之廣泛研究。本實驗的目的係針對台灣目前市場出售之黃連、黃蘗中藥材及其製劑作一普遍的抽樣調查，以明瞭其所含小蘗鹼量之差異。小蘗鹼之定量法有日本藥局方記載之 Acetone-Berberine 重量法¹，唯此法繁雜且誤差大，如以分光光度法測定時，除小蘗鹼成分外，尚會受到 Palmatine 等其他色素之影響，結果並不準確，故本次研究改用薄層層析斑點掃描法，發現其操作迅速、精確度亦高，極為適用。

前言

市售黃連有毛茛科 (*Ranunculaceae*) 植物野黃連 *Coptis chinensis* FRANCH; 日連 *C. Japonica* MAKINO; 雲連 *C. teetoides* C. Y. CHENG; 峨眉連 *C. cleltoides* C. Y. CHENG ET HSIAO; 崖連 *C. omeiensis* (CHENG) C. Y.; 三葉連 *C. trifolia* SALISB; 五加葉黃連 *C. quinquefolia* MIQ 等植物之乾燥根莖。黃蘗有芸香科 (*Rutaceae*) 植物黃蘗 *Phellodendron amurense* RUPR; 大葉黃蘗 *P. amurense* var. *japonicum* OHWI; 深山黃蘗 *P. amurense* var. *lavalleyi* SPRAGUE; 川黃蘗 *P. sachaliense* SARGENT; 廣葉黃蘗 *P. amurense* var. *sachalinense* FR. SCHNEID. 等植物的除去栓皮之樹皮。黃連中藥材所含成分 Isoquinoline alkaloid 中，除 Berberine 外尚有 Palmatine、Coptisine、Worenine 等，黃蘗中藥材之主成分係 Berberine，此外尚含 Palmatine、Magnoflorine、Phellodendrine 等，一般市售製劑如黃

連上清散、濃縮三黃錠、黃連解毒丸及加味黃連解毒丸等皆含有黃連及黃蘗。

材料與方法

一、材料：

(一)儀器：薄層層析斑點掃描儀：CS-920; Shimadzu.

(二)標準試藥及試藥：

(1)小蘗鹼鹽酸鹽標準品：Tokyo Kasei; Kogyo Co., LTD; Japan.

(2)乙醚：E. Merck-G.R

(三)檢體：

(1)黃連中藥材 12 種

(2)黃蘗中藥材 16 種

(3)含黃連、黃蘗中藥製劑 49 種

二、方法：

(一)標準溶液之配製：精確稱取小蘗鹼鹽酸鹽標準品 100mg，置入 100ml 量瓶內，加水加溫使其溶解，冷卻後加水至全量 100 ml。

(二)檢體溶液之配製²：

(1)黃連中藥材：精確稱取已研為粉末且經 80

TLC測定黃連、黃蘗及其製劑中之小蘗鹼

℃乾燥之黃連藥材 100 mg，接以迴流冷凝器，加水加熱抽取，反覆抽取至抽提液呈微黃色～無色為止。收集各次抽提液濃縮並加水至全量 100 ml。（以下簡稱 A 檢體溶液）

(2)黃蘗中藥材：精確稱取已研為粉末且經 80℃乾燥之黃蘗 200mg，接以迴流冷凝器，以乙醚 100 ml 加溫抽取 2 小時後棄乙醚液，殘渣續用水加熱抽取，反覆抽取至抽提液呈微黃色～無色為止。收集各次抽提液濃縮並加水至全量 100 ml。（以下簡稱 B 檢體溶液）

(3)含黃連、黃蘗中藥製劑：精確稱取研為粉末之製劑一日量或 6 g，接以迴流冷凝器，以乙醚 100 ml 加溫抽取 2 小時後棄乙醚液，殘渣續用

水加熱抽取，反覆抽取至抽提液呈微黃色～無色為止。收集各次抽提液濃縮並加水至全量 100 ml。（以下簡稱 C 檢體溶液）

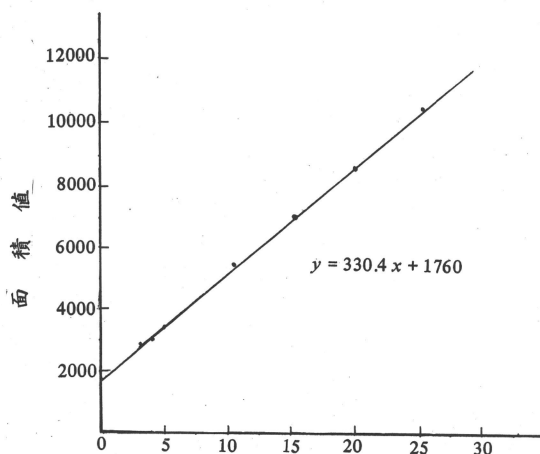
(三)薄層層析斑點掃描法：

取小蘗鹼鹽酸鹽標準溶液 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μ l (即相當於小蘗鹼鹽酸鹽各為 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μ g) 分別點在薄層板上，以正丁醇：醋酸：水 (4 : 1 : 5) 之上層液作展開液，展開後風乾，以 CS-920 掃描求出面積值 (表一)，繪出標準檢量線 (圖一)。然後將上述 A, B, C 檢體溶液各自濃縮至 20 ml 後，取定量和標準溶液對照點於薄層板上，展開風乾，將薄層板以紫外燈 366 nm 波長檢視，在 Rf 值 0.37 處均呈現明亮鮮黃色螢光斑點 (圖二)。再以 CS-920 掃描求出各檢體之小蘗鹼面積值，並對照標準檢量線求出小蘗鹼之濃度。其換算係數如下：

$$\text{小蘗鹼濃度} = \text{小蘗鹼鹽酸鹽標準溶液濃度} \times \frac{336.32}{408.82}$$

表一 小蘗鹼鹽酸鹽標準溶液面積值

Berberine-Hydrochloride 濃度 (μ g)							
3	4	5	10	15	20	25	30
2738	2938	3412	5551	6874	8368	10306	12250



圖一 小蘗鹼鹽酸鹽標準檢量線

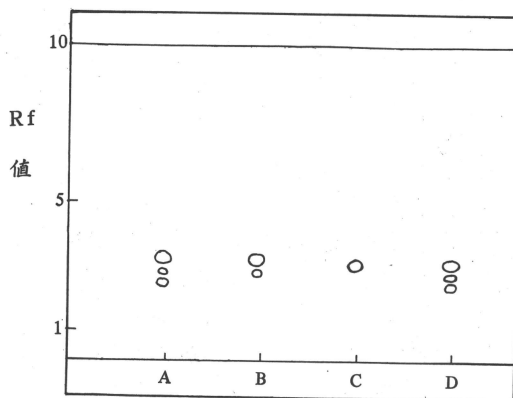
薄層層析板：Silica Gel GF 254 with concentrating zone; Merck.

檢體：3 μ g, 4 μ g, 5 μ g, 10 μ g, 15 μ g, 20 μ g, 25 μ g 及 30 μ g 等濃度之小蘗鹼鹽酸鹽標準溶液。

展開液：正丁醇：醋酸：水 = 4 : 1 : 5 之上層液。

儀器：High Speed TLC Scanner CS-920; Shimadzu.

激發波長：366 nm



圖二 黃連、黃蘗中藥材及其製劑於薄層層析板上，以 366 nm 波長檢視出之斑點

A：黃連中藥材

B：黃蘗中藥材

C：小蘗鹼鹽酸鹽標準品

D：含黃連、黃蘗中藥製劑

結果

黃連、黃蘗中藥材及其製劑之檢體溶液經薄層層析斑點掃描儀測定小蘗鹼換算其含量結果，黃連

藥物食品檢驗局調查研究年報 (Ann. Rept. FDB)

含小藥檢量為 3.2 ~ 6.0%，黃藥為 1.0 ~ 2.7%，而一般製劑取一日量或 6 g 檢體檢驗，由於處方中黃連或黃藥之份量各自相異，因此製劑中小藥檢之含量由最低 0.43 mg 至最高 93.7 mg。

參考文獻

1. 第十改正版日本藥局方。
2. 台灣藥學雜誌第二十七卷，第一、二期 (1975)

THE APPLICATION OF TLC SCANNING METHOD ON THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF BERBERINE IN CHINESE DRUGS

CHIEN-YI CHENG, JAU-JAU WANG, YI-CHU LIU
AND FANG-SUI LIU

ABSTRACT

The use of berberine in therapy is a bitter stomachic, bactericide, antipyretic and anti-inflammation. Berberine is the active principle of *Coptidis Rhizoma* and *Phellodendri Cortex*. As so far, the qualitative and quantitative method of berberine have been studied and improved. The aim of this experiment is to determine the amount of berberine in 12 kinds of crude plants of *Coptis* and 16 kinds of *Phellodendron* and 49 kinds of drug preparations which have *Coptis* and *Phellodendron* or one of both sold in Taiwan mark

now.

Acetone-berberine quantitative method is recorded in J.P. X., but this method is complex, difficult and not accurate. In U.V. spectrophotometry determination, the absorbance of berberine will be disturbed by palmatine and other color constituents in these drug extracts. So we modified and used the T.L.C. scanning method and found that it is an accurate, prompt and useful method.