

黄连素离子选择电极的研制

池 华 周同惠

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

提要 本工作对黄连素离子选择电极进行了研制。用这种电极测定黄连素有简便快速的特点。膜用聚氯乙烯为基体, 邻苯二甲酸二丁酯为增塑剂, 黄连素—四苯硼盐为电活性物质。所制成的电极对药根碱, 小蘗胺及其它一些生物碱具有一定的选择性, 可不经预先分离直接测定片剂中黄连素的含量。

关键词 黄连素; 离子选择电极

盐酸黄连素是重要的抗菌药物, 临床上用以治疗细菌性痢疾和一般炎症。黄连素的测定方法很多, 如用苦味酸沉淀的重量法⁽¹⁾、硅钨酸滴定法⁽²⁾、薄层分离洗脱比色法⁽³⁾和安培滴定法等。这些方法一般须将黄连素与其它生物碱分离后再进行测定。近年来有机离子选择电极在药物分析方面有了一些应用^(5,6)。本工作对黄连素离子选择电极进行了研制, 可不经分离直接测定黄连素, 此法简便、快速。

试剂与仪器

盐酸黄连素 特纯级, 上海第二军医大学药系附属工厂出品; 二水合盐酸黄连素 北京永康药厂; 硼酸、苦酮酸 一级; 硫酸铵、四苯硼钠、四硼酸钠、四氢呋喃 二级; 硫酸辛可尼丁、苦味酸、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二辛酯和磷酸三丁酯 三级; 硫酸氢黄连素 LR; 聚氯乙烯 (PVC) 粉 工业用; 盐酸巴马亭云南药检所提供; 盐酸药根碱和小蘗胺 本所植物室提供; 实验均使用重蒸馏水。pHM 64 型 pH 计 丹麦 Radiometer; 681 型磁力加热搅拌器 上海南汇电讯器材厂。

实验部分

(一) 电极制备

选择电极结构见图 1。电极的主要部分是对离子活度敏感的膜, 为了制备适用的膜进行了各种试验。

1. 电活性物质的制备

电极膜内的电活性物质是含有黄连素的沉淀, 曾试过的对离子有四苯硼根 (TPB⁻)、苦味酸根和苦酮酸根。制备的方法如下: 称 0.18g 四苯硼钠, 加 20 ml 95% 乙醇使之溶解, 用滤纸过滤后在水浴中加热至 50°C 备用。称 0.22g 二水合盐酸黄连素, 加 150 ml 95% 乙醇搅拌使其溶解并在水浴中加热到 50°C, 过滤后在搅拌下把四苯硼钠乙醇溶液慢慢倒入盐酸黄连素溶液中, 继续搅拌 1 小时, 放置过夜, 用 G3 垂熔漏斗过滤, 95% 乙醇 50 ml 洗涤沉淀。用五氧化二磷干燥二天, 用四氢呋喃重结晶后即可用于制膜。黄连素与苦味酸、苦酮酸的沉淀均在水相中进行。

2. 对离子和增塑剂的选择

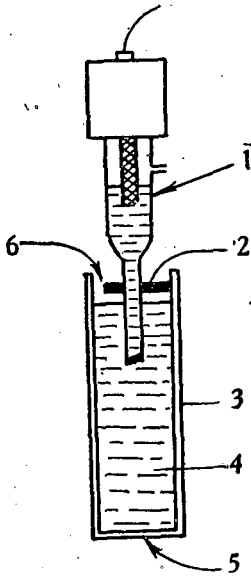


图 1 黄连素离子选择电极的构造
1. 甘汞电极内充 0.1 MKCl 溶液 2. 固定橡皮
3. PVC 管 4. 内充液 5. PVC 膜 6. 小孔

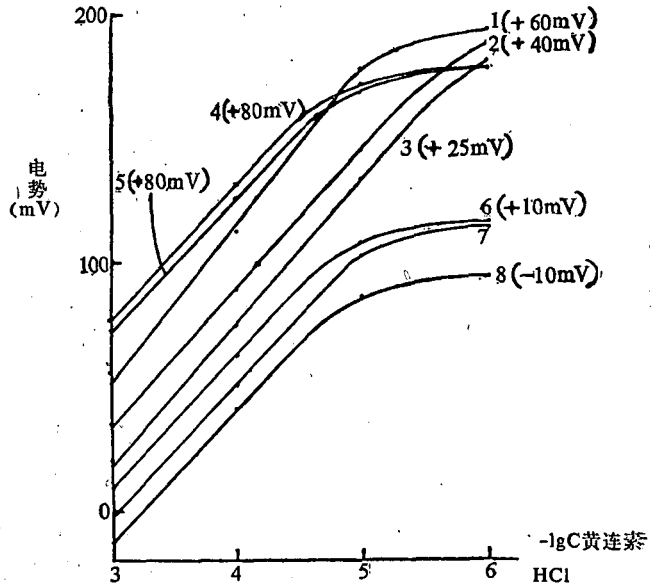


图 2 用各种对离子和增塑剂制的膜的响应曲线图中所标 ± mV 数为纵坐标平移量

选用了三种增塑剂：磷酸三丁酯 (TBP)，邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)，邻苯二甲酸二辛酯(DOP)。按表 1 所列的配比取增塑剂和沉淀制成膜，将膜用四氢呋喃粘在聚氯乙烯管上制成电极。电极内充 $10^{-3}M$ 硫酸氢黄连素溶液；内、外参考电极均用饱和甘汞电极，测定各个膜对盐酸黄连素的响应曲线，结果见图 2。由图 2 看，以 TPB^- 为对离子，DBP 和 DOP 为增塑剂的膜检出下限较低。黄连素—TPB 在 DBP 中的溶解度远大于 DOP。因此以 TPB^- 为对离子，DBP 为增塑剂较好。

表 1 对离子和增塑剂制膜 (PVC 粉用量均为 0.17 g)

对 离 子	四 苯 硼 根			苦 味 酸 根		苦 酮 酸 根		
	TBP	DOP	DBP	TBP	DBP	TBP	DOP	DBP
增塑剂种类								
增塑剂用量 (ml)	0.29	0.22	0.18	0.29	0.18	0.29	0.22	0.18
沉淀用量 (mg)	20	10	20	20	10	10	10	10
序 号	1	2	3	4	5	6	7	8

3. 膜组成的选择

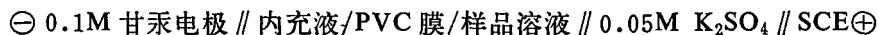
在确定了对离子和增塑剂后，又以不同量的黄连素—TPB 沉淀与增塑剂制膜，沉淀用量为 20~40mg，DBP 为 0.072~0.22 ml。膜制成后，浸在 $10^{-4}M$ 盐酸黄连素溶液中。三周后，DBP 用量较多的膜表面分布有许多浅黄色小颗粒，而增塑剂用量较小的膜保持基本透明。可能是由于 DBP 用量多时膜的结构疏松，不耐浸。但增塑剂太少时膜电阻显著增大，如含 0.072ml DBP 的膜(含 20mg 沉淀)电阻为 58 MΩ。根据这些膜的性质和响应，确定 DBP 的用量为 0.14 ml。对四苯硼黄连素沉淀用量的研究表明，当膜内含沉淀太多时会析出结晶，使膜不均匀，最后确定沉淀用量为 30 mg。

按上述配比制备了不同厚度 0.15~0.64 mm 的膜，各膜的响应无大差别，但 0.15 mm

的膜太薄容易破损，其它厚度的膜较坚固。

4. 膜与电极的制备

由上述实验，确定膜的制备方法如下：称取 30 mg 沉淀及 0.17g PVC 置于 20 ml 烧杯，加入 0.14ml DBP，6ml 四氢呋喃，搅拌使 PVC 和沉淀完全溶解，烧杯上覆以玻璃板，静置三天，使四氢呋喃慢慢挥干后即得膜。膜的厚度为 0.35 mm。用打孔器从膜上切下直径 13mm 的圆形膜，粘在聚氯乙烯管上构成电极。内参考电极为 0.1M 甘汞电极，内充液为含 $10^{-2}M$ K_2SO_4 的 $10^{-4}M$ 盐酸黄连素溶液，测定时外参考电极用双盐桥饱和甘汞电极，外盐桥充 $0.05M$ K_2SO_4 溶液（用硫酸盐可防止盐酸黄连素沉淀），组成电池为：



(二) 电极性能

1. 膜电势和 PH 的关系

在含 $10^{-2}M$ K_2SO_4 的 $10^{-4}M$ 盐酸黄连素中插入膜电极和参考电极，同时插入玻璃电极，用 pH 计监测溶液 pH，以盐酸和氢氧化钠溶液调 pH，记录在各个 pH 时的膜电势，以膜电势对 pH 作图（图 3）。图 3 所示在 pH 7.6~9.0 范围内电势不随 pH 变化，在 pH 6.2~10.5 范围内，电势随 pH 变化的量小于 1 mV，因此可在较宽的 pH 范围内测定，并可借调节 pH 消除某些干扰，如使一些生物碱沉淀等。

2. 膜电势和时间的关系

在含 $10^{-2}M$ K_2SO_4 的不同浓度的盐酸黄连素溶液内插入电极并搅拌，每隔一段时间记录一次电势读数，20 分钟后停止搅拌，记录溶液静止条件下电势随时间的变化，结果见图 4。

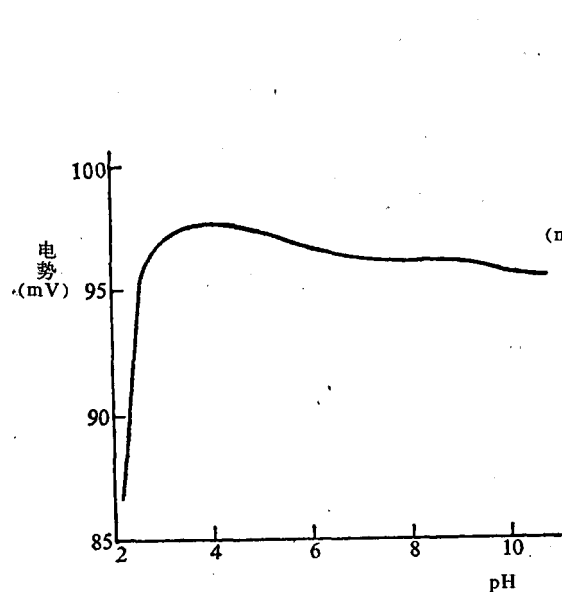


图 3 膜电势和 pH 的关系

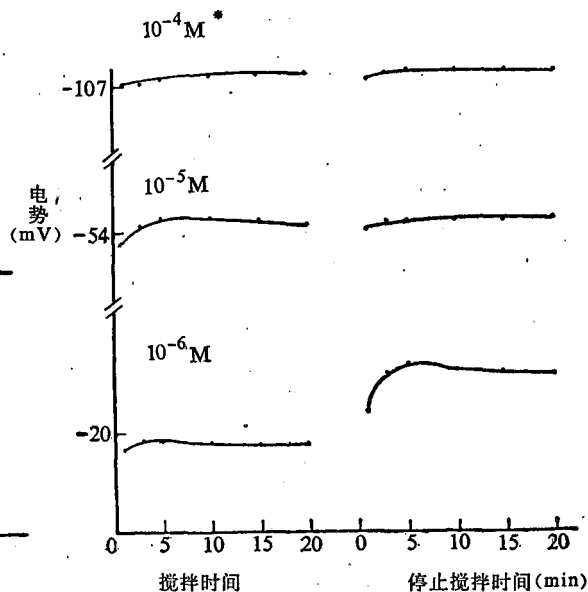


图 4 黄连素电极电势随时间的变化

* 盐酸黄连素溶液

可以看出，在搅拌 5 分钟和停止搅拌 5 分钟后电势随时间的变化较小，因此在此时读数较为适宜。

3. 电极的响应曲线

配制不同浓度的盐酸黄连素溶液，记录搅拌 5 分钟时的电势读数。测得响应曲线见图 5。图中 pH 7.3 的溶液含 $0.0017M$ 磷酸盐缓冲液，pH 8.3 的溶液含 $10^{-3}M$ 硼酸盐缓冲液，各曲

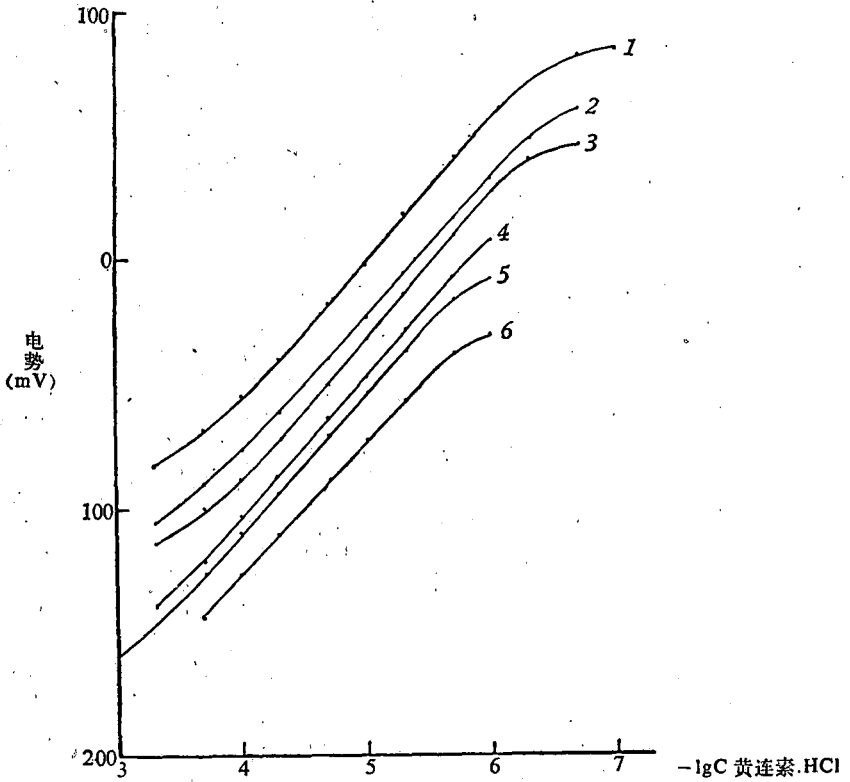


图 5 黄连素电极响应曲线,以下所标±mV 数为纵座标平移量

1. pH 8.3, 17°C (+70 mV) 电位级差 57 mV
2. pH 7.3, 15°C (+60 mV) 电位级差 55 mV
3. pH 7.3, 25°C (+50 mV) 电位级差 59 mV
4. pH 8.3, 18°C 含 10^{-2} MK₂SO₄ 电位级差 56 mV
5. pH 7.3, 25°C (+10 mV) 含 10^{-3} MK₂SO₄ 电位级差 56 mV
6. pH 7.3, 15°C (-10 mV) 含 10^{-2} MK₂SO₄ 电位级差 54 mV

线的斜率标在图下, 其范围在 54~59 mV/浓度级, 符合 Nernst 公式。

4. 膜的选择性

膜电极对黄连素离子 a_i 和干扰离子 a_j 的响应可用下式表示

$$E = E^0 + \frac{2.303 RT}{n_i F} \lg(a_i + \sum K_{ij} a_j^{n_i/n_j})$$

n_i 是黄连素离子所带电荷, n_j 是干扰离子所带的电荷, E^0 是膜电极的标准电极电位。用分别溶液法⁽⁷⁾测定了膜电极的选择性。配制 pH 8.3 的 2×10^{-5} M 的一些干扰离子和黄连素溶液, 用膜电极测定各个溶液, 按公式 $\lg K_{ij} = \frac{E_1 - E_2}{2.303 RT/nF}$ 计算选择性系数。 E_1 为黄连素溶液电势, E_2 为其它离子溶液的电势, 测定结果见表 2。

黄连素电极对无机离子及一些生物碱选择性系数较小。巴马亭, 药根碱与黄连素的结构很相近, 巴马亭的选择性系数较大, 但药根碱的选择性系数仍较小, 可能是由于药根碱有一个羟基, 使它更容易溶在水中, 而巴马亭无羟基, 有利于进入膜相。

5. 方法的重现性

在一天内多次测定 10^{-6} M、 10^{-5} M 和 10^{-4} M 盐酸黄连素溶液, 溶液内含 10^{-2} M K₂SO₄, pH 7.3, 读取搅拌 5 分钟和停止搅拌 5 分钟时的数值, 结果见表 3。

表 2 黄连素离子选择性电极对一些离子的选择性系数

干 扰 物 质	k_{ij}	干 扰 物 质	k_{ij}
氯化钾	1.4×10^{-2}	盐酸可卡因	1.8×10^{-2}
硫酸铵	1.6×10^{-2}	盐酸巴马亭	0.36
硫酸辛可尼丁	1.6×10^{-2}	小蘖胺	7.3×10^{-2}
盐酸麻黄碱	1.8×10^{-2}	盐酸药根碱	8.1×10^{-2}
溴氢酸槟榔碱	1.4×10^{-2}	阿朴吗啡	1.6×10^{-2}

表 3 电极重现性的测定

盐酸黄连素溶液浓度 (M)	搅 拌 测			静 止 测		
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
电势 (mV)	3.0	-52.5	-107.2	4.2	-52.7	-107.2
	4.1	-53.4	-109.0	5.1	-53.7	-108.5
	4.8	-53.4	-108.6	6.2	-53.6	-108.3
	5.9	-54.5	-109.6	7.0	-54.5	-109.2
	7.1	-54.0	-108.2	8.0	-54.1	-108.3
标准偏差 (\pm mV)	1.6	0.8	0.9	1.5	0.7	0.7

每隔数日测一次电极的响应曲线, 四次测定, 电位级差变化在 ± 1 mV以内, 各浓度测得电势差异在 ± 2 mV以内。

(三) 定量测定法

1. 直接电势法

标准曲线的制备 测量含 10^{-2} M K_2SO_4 和 pH 8.3 的 10^{-3} M 硼酸盐缓冲液的不同浓度盐酸黄连素溶液, 制作标准曲线。

片剂的测定 取药片 100 片, 粉碎, 混合均匀后, 精密称取 5~20 mg 粉末, 用水溶解并转入 50 ml 容量瓶定容, 吸取 5.00 ml 上清液放入 50 ml 容量瓶中, 加 5.0 ml 0.1 M K_2SO_4 溶液, 5.0 ml pH 8.3 的 10^{-2} M 硼酸盐缓冲液, 稀释到刻度。取 10 ml 置 15 ml 烧杯中, 插入电极, 搅拌 5 分钟后停止搅拌, 5 分钟后读数。

片剂测定结果 (表 4) 相当于药典法的 94.5%。片剂 21 次测定标准偏差 $\pm 1.6\%$, 而纯品溶液的测定结果与药典法一致, 回收率为 100.3%。片剂的结果比药典法低的原因是由于片剂用的黄连素原料内含有杂质如药根碱, 用药典法测定时, 苦味酸与药根碱也形成沉淀, 因而使结果偏高, 用黄连素电极测定时, 由于它对药根碱的选择性系数较小, 所以由药根碱给出的电势值很低, 基本上不干扰。曾用薄层层析法⁽⁸⁾ 对片剂中黄连素进行分析, 发现有药根碱杂质点, 用 CS 910 薄层扫描仪进行定量测定, 样品波长 340 nm, 参考波长 660 nm, 按归一法计算, 片剂中药根碱含量为 6.6%。

2. 电势滴定法

配制盐酸黄连素溶液, 置烧杯中, 用黄连素电极为指示电极, 参考电极用双盐桥饱和甘汞电极, 外盐桥为 0.1 M Na_2SO_4 溶液, 用 0.004040 M 四苯硼钠溶液 (药典法标定) 滴定。17°C, 25°C, 30°C, 35°C 滴定曲线见图 6。17°C 滴定曲线在突跃前沿有一小阶梯, 温度升高时, 此阶梯趋于消失。这可能是由于黄连素—四苯硼盐沉淀吸附黄连素, 到终点附近时, 溶液中的黄连素已很少, 吸附的黄连素解吸出来, 造成此阶梯, 当温度升高时, 吸附减少,

表 4 片 剂 测 定 结 果

称 样 量 (mg)	电 势 (mV)	测 出 含 量 (%)
7.18	-67.8	69.4
	-68.3	71.0
	-67.7	69.1
6.36	-64.8	69.2
	-64.9	69.3
	-65.2	70.3
7.22	-68.4	70.6
	-68.6	71.1
	-68.2	70.1
6.39	-64.5	67.9
	-65.3	70.0
	-65.3	70.0
13.92	-83.5	67.7
	-83.9	68.7
	-83.8	68.5
20.4	-93.0	67.7
	-92.8	67.4
	-93.0	67.7
6.99	-67.3	70.0
	-67.3	70.0
	-66.8	68.4
平 均 值		69.2*
标准偏差 ±1.6% (n=21)		

* 药典法测定平均结果为 73.3%

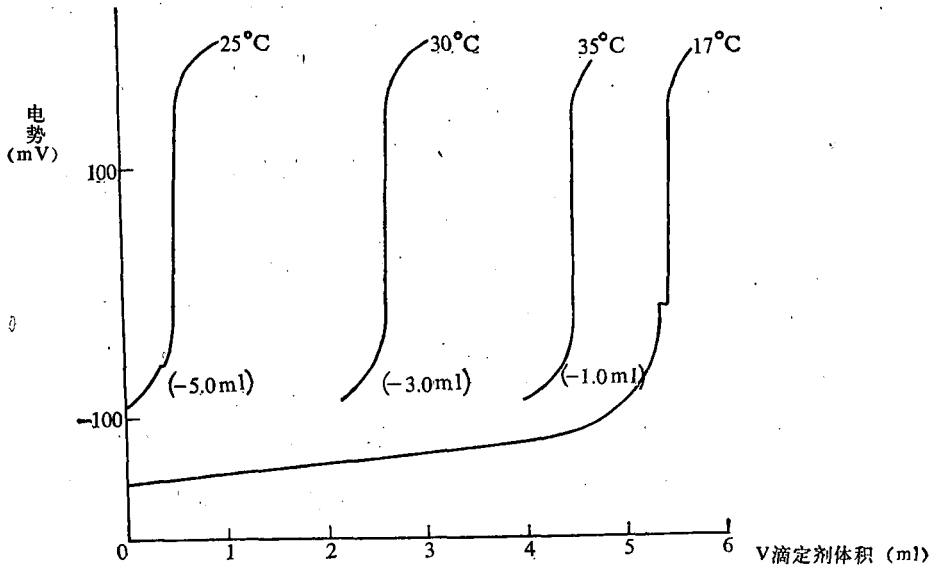


图 6 电势滴定曲线, 图中所标 - ml 数为横坐标平移量

阶梯趋于消失。各温度滴定的结果基本一致,在 17°C,六次滴定纯品平均回收率 99.6%,标准偏差 $\pm 0.4\%$ 。取纯品和片剂约 50~70 mg 用水溶解后转入 50 ml 容量瓶定容,吸取 10.00 ml 放入烧杯,加 1.0 ml pH 8.5 的 0.1 M 硼酸盐缓冲液后进行滴定。片剂的结果见表 5。因系用沉淀滴定生物碱,结果与药典法相符。

表 5 电势滴定测定结果

样 品	称 样 量 (mg)	NaTPB 溶液体积 (ml)	测 出 含 量 (%)	药典法含量 (%)
片 剂	71.1	6.33	73.3	73.3
	73.7	6.59	73.7	73.3

致谢 陈碧珠曾纪琰同志提供药根碱,小蘗胺和巴马亭;本所仪器分析室协助作元素分析,特此一并致谢。

参 考 文 献

1. 中华人民共和国药典, 1963 年版, 二部, 第 98 页
2. 章育中等: 黄连中小蘗碱的含量测定. 药学报 9:418, 1962
3. 陈碧珠等: 小蘗中小蘗碱的薄层分光光度比色测定法. 药学通报 15:295, 1980
4. 徐礼棠等: 生物碱的安培滴定. 药学报 12:798, 1965
5. 深町和美, 他: メチルエフェドリン电极及びエフェドリン电极の试作とその特性. 分析化学 (日) 24:428, 1975
6. Hassan, SSM et al: Liquid membrane electrode for direct potentiometry and potentiometric titration of strychnine. *Anal Chem* 51:1651, 1979
7. Moody G J and Thomas J D R: Selective Ion Sensitive Electrodes, Merrow Publ Co Watford, Herfordshire, 1971; 中国科学院南京土壤研究所电极组译: 选择性离子敏感电极, 第 8 页, 科学出版社, 北京, 1975
8. 中国医学科学院药物研究所: 薄层层离及其在中草药分析中的应用, 第 125 页, 科学出版社, 北京, 1978

STUDY ON BERBERINE ION SELECTIVE ELECTRODE

CHI Hua and ZHOU Tong-hui

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of
Medical Sciences, Beijing*)

ABSTRACT

A new selective electrode sensitive to berberine was developed. It is based on the use of berberine-tetraphenylborate ion-pair complex in polyvinyl chloride membrane, dibutylphthalate being used as the plasticizer. The electrode showed Nernstian responses down to 10^{-6} M over a pH range of 6.2~11.5 with cationic slope of 57 mV/concentration decade. Selectivity coefficients for jatrorrhizine and some other alkaloids are small. Direct potentiometric determination of samples and potentiometric titration with rodim tetraphenylborate can be used for the determination of berberine.

Key words Berberine; Ion selective electrode