

用双波长薄层扫描仪作维生素U 防湿颗粒的分析

赵体慧 陈玉英 张冀 钱俊斌 于嘉临 单文璜

(南京药学院)

(江苏省植物研究所)

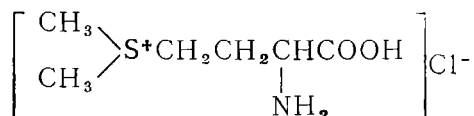
摘 要

本文用纸层析法以正丁醇-95%乙醇-甲酸-水(77:15:20:20)为展开剂,分离鉴定了维生素U防湿颗粒,并测量了各组分的 R_f 值。

将维生素U与其分解产物丝氨酸、甘氨酸等分离后,利用双波长薄层扫描仪与微型色谱数据处理机联用,以外标法及相对百分含量法测定含量。本法准确、灵敏、操作简便。

维生素U的化学名称为氯化(3-氨基-3-羧基丙基)二甲基硫盐 [(3-Amino-3-carboxypropyl)dimethyl sulfonium chloride]。

结构式为:



目前国内维生素U及其制剂的含量测定方法多采用甲醛法^[1]及银量法^[2]。

1964年黄乔书等曾用纸层析法对维生素U注射液进行鉴定,1970年Reio,L.用纸层析法分离鉴定了维生素U^[4]。

近来有关维生素U的分离鉴定及含量测定的报导甚多,如薄层层析法^[5-7]、纸电泳法^[3]、气相层析法^[9,10]及极谱法^[11,12]等。

根据文献^[3]报导,维生素U可分解成丝氨酸、甘氨酸、高丝氨酸及蛋氨酸等。本文采用纸层析法将维生素U及其分解产物各种氨基酸等分离后,利用双波长薄层扫描仪与微型色谱数据处理机联用,以外标法及相对百分含量法测定其含量。本法之优点是准确、灵敏、操作简便;缺点是斑点显色后颜色要求稳定,否则易产生误差,但注意平行原则,可以改善。

一、试剂、样品和仪器

(一) 层析滤纸

30×30cm 中速层析滤纸(杭州新华造纸厂)。

(二) 展开剂

1. 正丁醇(A.R.)-冰醋酸(A.R.)-水(4:1:1)。
2. 正丁醇(A.R.)-甲酸(C.P.)-水(77:10:13)。
3. 正丁醇(A.R.)-丙酮(A.R.)-水(10:10:5)。
4. 正丁醇(A.R.)-95%乙醇(A.R.)-甲酸(C.P.)-水(77:15:20:20),有效期二天。
5. 正丁醇(A.R.)-95%乙醇(A.R.)-甲酸(C.P.)-水(77:20:30:30),有效期二天。

(三) 茚三酮显色剂

取茚三酮 0.25g 溶于 100ml 丙酮中,加冰醋酸 7 ml,有效期为三天。

(四) 样品及对照品

1. 样品溶液的配制

(1) 维生素 U 防湿颗粒样品溶液 A 的配制:精确称取样品适量于乳钵中,加水少许研磨成糊状,再加水 5 ml,共研磨 20 分钟,定量转移至容量瓶中,加水至刻度,配成 10.0mg 维生素 U/ml;振摇 1 小时,在暗处放置 24 小时,取出上层清液离心 10 分钟(转速 3000 转/分),取离心液直接点样,用以作鉴定及相对百分含量。剩余样品存放于冰箱中。

(2) 维生素 U 防湿颗粒样品溶液 B 的配制:精确称取样品适量于乳钵中,按(1)项方法配制 1.0mg 维生素 U/ml,用以作外标法。剩余样品存放于冰箱中。

2. 对照品溶液的配制

(1) 丝氨酸溶液:精确称取本品 10.00mg 于 10ml 容量瓶中,加水 5 ml 溶解后,用 95%乙醇稀释至刻度。

(2) 甘氨酸溶液:按(1)项方法配制。

(3) 维生素 U 溶液 A:精确称取本品 100.0mg 于 10ml 容量瓶中,加水 5ml 溶解后,用 95%乙醇稀释至刻度。

(4) 维生素 U 溶液 B:按(1)项方法配制。

(五) 仪器

1. 岛津 CS-910 双波长薄层扫描仪(日本)。
2. Chromatopac-EIA 微型色谱数据处理机(日本)。
3. 层析缸:长方形 20×12×30cm 玻璃缸。
4. 微量点样器(10 μ l);微量注射器(10 μ l)。

二、分离鉴定

(一) 方法

1. 点样:取中速层析滤纸切成 27×18cm 及 27×12cm 纸条,在距一端 2 cm 处划起

始线,用微量点样器分次点样,样品点的直径约2—3mm,边点边用冷风吹干,分别点样品溶液 $410\mu\text{l}$ 或 $1\mu\text{l}$ 及对照品溶液少许,两点间距离约2.5cm.

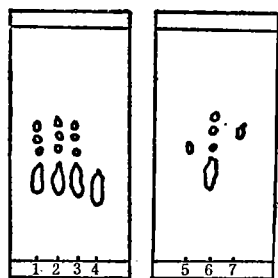
2. 展开:将点有样品的一端浸入展开剂中约0.3cm处,待展开剂前沿离起始线23cm处取出,阴干,再展开一次.

3. 检出:均匀喷洒显色剂茚三酮,在 $60\pm 2^\circ\text{C}$ 烘箱中放置5分钟,得层析谱,测 R_f 值.

4. 双波长线形扫描:测定采用反射法;光源为钨灯;样品波长392nm、参比波长700nm;扫描速度和纸速分别为40mm/min、10mm/min;狭缝为10mm \times 1.0mm;散射参数是SX=3;记录仪灵敏度 $\times 5$;点样量为 $1\mu\text{l}$.

(二) 结果

见图1—3和表1、2.



展开时间: 10小时

图1 样品及对照品在展开剂(4)中的层析谱之一

- 1—3分别为样品1127、1116、1218;
4. 维生素U溶液A对照品;
5. 丝氨酸对照品; 6. 样品1218;
7. 甘氨酸对照品. 样品点样量 $10\mu\text{l}$.

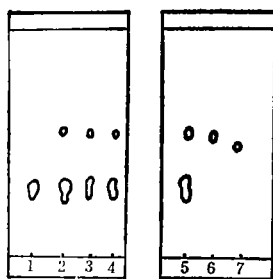


图2 样品及对照品在展开剂(4)中的层析谱之二

1. 为维生素U溶液A对照品;
2—5. 分别为样品1116、1127、1218、1218; 6. 为甘氨酸对照品;
7. 为丝氨酸对照品. 点样量均为 $1\mu\text{l}$.

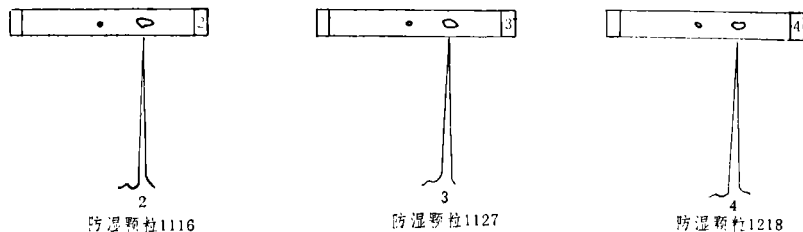


图3 样品的双波长线形扫描图

表1 样品及对照品的 R_f 值

斑点 次序	R_f 值			
	样品1116	样品1127	样品1218	对 照 品
1	0.18	0.17	0.18	维生素U 0.16
2	0.25	0.24	0.24	丝氨酸 0.23
3	0.28	0.28	0.28	甘氨酸 0.26
4	0.30	0.30	0.30	未知物

表2] 样品及对照品的 R_f 值

斑点 次序	R_f 值			
	样品1116	样品1127	样品1218	对 照 品
1	0.15	0.15	0.15	维生素U 0.14
2	0.27	0.27	0.27	甘氨酸 0.26

注: 表1实验温度为 $10\pm 3^\circ\text{C}$. 点样量均为 $10\mu\text{l}$. R_f 值均取五次测量平均值; 表2实验温度为 $10\pm 3^\circ\text{C}$. 点样量均为 $1\mu\text{l}$.

(三) 讨论

1. 层析滤纸: 使用慢速及中速新华层析滤纸, 结果相似. 为缩短展开时间, 采用

中速新华层析滤纸。

2. 展开剂：共用了五种展开剂，结果见图 1、4，由图 1、4 可看出展开剂(4)分离效果最好，故采用(4)为分离鉴定及含量测定的展开剂。

3. 防湿颗粒制备过程中，维生素 U 分解较少，除 R_f 值为 0.15—0.18 的斑点为维生素 U 外，有三个较小的杂斑，其中 R_f 值为 0.27—0.28 的斑点为甘氨酸， R_f 值为 0.24—0.25 的斑点为丝氨酸，另一个淡黄色斑点因无对照品未作鉴定。

4. 防湿颗粒点样量超过 100 μ g (相当于维生素 U 量) 时，在维生素 U 斑点尖端有时还会出现一个小杂斑，未能很好地分离。

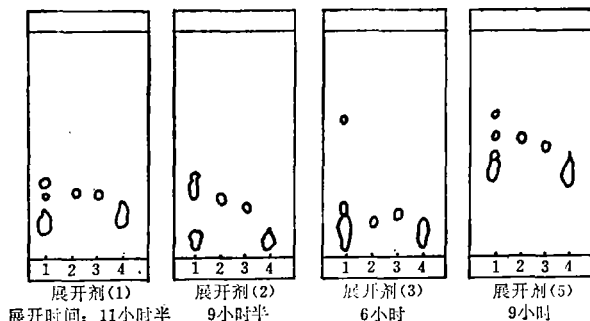


图 4 样品及对照品在四种展开剂中的层析谱
1. 样品 1218; 2. 甘氨酸对照品; 3. 丝氨酸对照品;
4. 维生素 U 溶液 4 对照品。

三、含量测定

用纸层析法将维生素 U 与分解产物甘氨酸、丝氨酸等分离后，再用双波长薄层扫描仪与微型色谱数据处理机联用，以外标法及相对百分含量法测定含量。

(一) 维生素 U 标准曲线的绘制

1. 方法：取滤纸切成 27 \times 18cm，分别点维生素 U 溶液 B 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 μ l，展开并按分离鉴定方法显色后，用双波长薄层扫描仪扫描。

2. 实验条件：测定采用反射法；扫描方式为锯齿形扫描；扫描速度及纸速分别为 20mm/min、20mm/min；狭缝为 1.25mm \times 1.25mm；记录仪灵敏度 \times 1；其余条件与线形扫描相同。

3. 测定结果可见表 3。

4. 双波长锯齿形扫描结果和标准曲线可见图 5、6。

表 3 各斑点的积分值

点样量 (μ g)/斑点	2.0	4.0	6.0	8.0
积分值	1.52	2.95	4.53	5.80

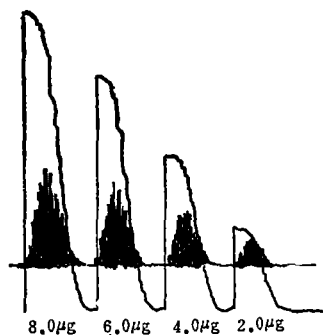


图 5 维生素 U 溶液 B 的双波长锯齿形扫描图

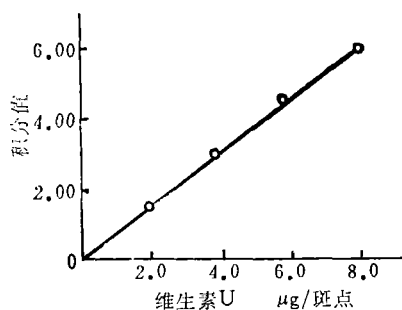


图 6 维生素 U 溶液 B 的标准曲线

由上述试验看出, 维生素 U 在 $8.0\mu\text{g}$ 以下呈线性.

(二) 灵敏度试验

最低检出量为 $0.13\mu\text{g}$.

(三) 回收率试验

1. 方法: 精确称取空白防湿颗粒, 按配方量准确加入维生素 U 对照品, 配法同前. 取滤纸切成 $27 \times 18\text{cm}$, 分别点上述防湿颗粒及维生素 U 溶液 $B_4.0\mu\text{l}$, 展开并按分离鉴定方法显色后, 用双波长薄层扫描仪扫描.

2. 实验条件: 与上述维生素 U 标准曲线的绘制实验条件相同.

3. 测定结果见表 4.

(四) 外标法

方法及实验条件与回收率项相同, 测定结果见表 5.

表 5 维生素 U 防湿颗粒中维生素 U 的测定结果

代 号	含 量	次 数	第一 次(%)	第二 次(%)	第三 次(%)	平均 值(%)
样 品	1218		98.3	98.9	98.9	98.7
样 品	1127		95.3	101.4	97.5	98.1
样 品	1116		99.0	101.9	101.1	100.7

(五) 相对百分含量法

1. 方法: 点样量为 $9\mu\text{l}$, 其余按前述分离鉴定方法. 显色后, 用双波长薄层扫描仪与微型色谱数据处理机联用, 计算各组分的相对百分含量.

2. 实验条件: 扫描速度为 $20\text{mm}/\text{min}$; 纸速为 $10\text{mm}/\text{min}$; 其余条件与维生素 U 标准曲线绘制相同.

3. 双波长锯齿形扫描图见图 7.

4. 计算方法:

$$\text{组分}\% = \frac{\text{每个斑点的积分值}}{\text{总积分值}} \times 100\%$$

5. 测定结果见表 6.

表 6 维生素 U 防湿颗粒测定结果

代 号	组 分	含 量	次 数	第一 次(%)	第二 次(%)	第三 次(%)	平均 值(%)
样 品 1218	维 生 素 U			99.5	99.4	99.2	99.4
	甘 氨 酸			0.5	0.6	0.8	0.6
样 品 1127	维 生 素 U			99.3	99.2	98.8	99.1
	甘 氨 酸			0.7	0.8	1.2	0.9
样 品 1116	维 生 素 U			98.9	99.2	98.6	98.9
	甘 氨 酸			1.1	0.8	1.4	1.1

表 4 回收率试验结果

批号	结果(%)	平均值(%)	变异系数(%)
I	95.2	98.1	2.4
	95.1		
	98.7		
II	99.4	98.1	2.4
	100.8		
	99.5		



图 7 样品的双波长锯齿形扫描图

1-3 分别为样品 1218, 1127, 1116.

(六) 讨论

1. 维生素 U 防湿颗粒分解产物中的丝氨酸, 由于含量极微, 故未予考虑。另一个淡黄色杂斑, 在 392nm 处吸收很弱, 无法测定, 但对测定结果影响较小。

2. 维生素 U 标准曲线的线性范围的测试结果表明, 维生素 U 在 10 μ g 时曲线弯曲, 详见表 7 及图 8、9。

表 7 各斑点的积分值

点样量 (μ g)/斑点	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
积分值	1.68	3.11	4.26	5.48	6.14

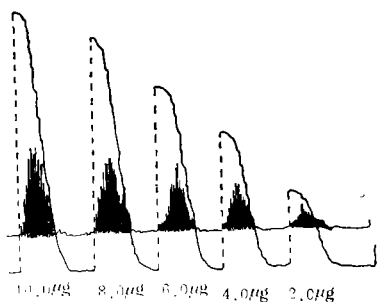


图 8 维生素 U 溶液 B 的双波长锯齿形扫描图

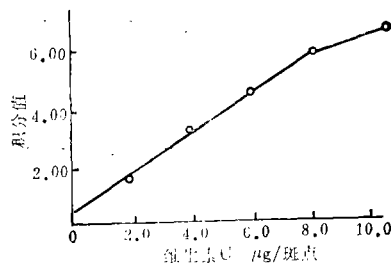


图 9 维生素 U 溶液 B 的线性范围图

3. 目前用双波长薄层扫描法测定含量, 常采用外标法。

致谢: 本文部分数据由我院分析室董善士、杨敬荣、王莉华同志代测, 特此表示谢意。

参 考 文 献

- [1] 北京市卫生局编, 北京市药品规范, 131, 1964年。
- [2] 河北省革命委员会卫生局编, 河北省药品标准, 151, 1975年。
- [3] Bukin, V.N., *C.A.*, 80, 63789m (1974).
- [4] Reio, L., *J.Chromatog.*, 47, 60 (1970).
- [5] Stephanus Pasaribu, *C.A.*, 67, 120226h (1967).
- [6] Kovacheva, E., *et al.*, *C.A.*, 83, 152423s (1975).
- [7] Nunoura, Yoshiki., *et al.*, *C.A.*, 87, 141334v (1977).
- [8] Khuchua, G.N., *et al.*, *C.A.*, 84, 56078h (1976).
- [9] Bezzubov, A.A., *et al.*, *C.A.*, 86, 167282f (1977).
- [10] Petunina, A.G., *et al.*, *C.A.*, 88, 158521x (1978).
- [11] Pozdeeva, A.A., *et al.*, *C.A.*, 85, 25135p (1976).
- [12] Pozdeeva, A.A., *et al.*, *C.A.*, 86, 2019n (1977).

THE ANALYSIS OF ANTI-MOISTURE GRANULE OF VITAMIN U BY MEANS OF DUAL- WAVELENGTH TLC SCANNER

Zhao Tihui, Chen Yuying, Zhang Ji, Qian
Junbin and Yu Jialin

(Nanjing College of Pharmacy, Nanjing)

Shan Wendian

(Institute of Plant Research of Jiangsu Province)

ABSTRACT

Vitamin U is a commonly used combined drug for treatment of ulcer of digestive nature. Its chemical name is [(3-Amino-3-carboxypropyl)dimethyl sulfonium chloride].

In this paper we have used the paper chromatography with N-butanol-95% ethanol-formic acid-water (77:15:20:20) as developing agent. We have separated and identified anti-moisture granule of vitamin U, and determined R_f value of each component.

After separation of vitamin U from its decomposition products, serine, glycine etc., we availed ourselves of the dual-wavelength TLC scanner connected with the processor, and used external comparison method and relative percentage quantitative method to determine the content.

This method has proved to be accurate, sensitive and simple in operation.