

Monobasic acids such as C_6 or higher, present in the sample, did not interfere with the detection of the dibasic acids, because the monobasic acids migrated with the front.

Government Chemical Industrial
Research Institute, Tokyo,
Shibuya-ku, Tokyo (Japan)

SHOJI MIYAZAKI
YASUO SUHARA
TADASHI KOBAYASHI

- 1 D. BRAUN AND H. GEENEN, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 56.
- 2 H. J. PETROWITZ AND G. PASTUSKA, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 128.
- 3 N. S. RAJAGOPAL, P. K. SARASWATHY, M. R. SUBBARAM AND K. T. ACHAYA, *J. Chromatog.*, 24 (1966) 217.
- 4 E. BANCHER AND H. SCHERZ, *Mikrochim. Acta*, (1964) 1159.
- 5 E. KNAPPE AND D. PETERI, *Z. Anal. Chem.*, 188 (1962) 184; 190 (1962) 380.

Received August 28th, 1968

J. Chromatog., 39 (1969) 88-90

CHROM. 3807

Präzisierung der quantitativen Berberinbestimmung durch dünnschichtchromatographische Direktauswertung

Berberin ist als Hauptalkaloid mehrerer Berberis-Arten Bestandteil der daraus hergestellten und arzneilich verwendeten Verarbeitungsformen. Die bei der quantitativen Alkaloidbestimmung übliche Anreicherung durch alkalische Ätherausschüttelung führt zur Erfassung bestimmter Gruppen oder des Gesamtkomplexes der Berberisalkaloide. Durch Modellversuche an Berberinchloridlösung wurde beobachtet, dass mit Äther keine quantitative Ausschüttelung möglich ist. Darüber hinaus entstehen allein durch kurzzeitige Alkalisierung dünnschichtchromatographisch nachweisbare Sekundärprodukte. Das führte in jedem Fall zu Unterwerten mit Wiederfindungsraten von 84,0–85,8%.

Die DC-Fluorometrie gestattet die Direktmessung des Berberins bzw. seiner Salze (Fig. 1) ohne vorherige Anreicherung. Mit dem von KURONO *et al.*¹ beschriebenen Laufmittel (Butanol-Eisessig-Wasser, 7:1:2; Adsorbens: Kieselgel) lässt sich das Alkaloid in alkoholischen Berberis-Auszügen ausreichend von störenden Begleitstoffen abtrennen. Die dem Berberin zuzuordnende Fluoreszenz auf dem DC zeigte nach Alkalibehandlung der Auftraglösung gleiche Intensitätsminderungen wie das reine Alkaloid.

Zur quantitativen Bestimmung des Berberins werden von dem zerkleinerten Drogenmaterial (Sieb 5, DAB 7) 100 mg viermal mit je 15 ml Methanol (80%ig) 15 min am Rückfluss extrahiert. Die Abtrennung der Extraktionslösung erfolgt mittels G4-Glasfritte unter Nachwaschen. Die vereinigten Filtrate werden mit Methanol (80%ig) auf 100 ml ergänzt und zur Auftragung auf die DC-Platte mit dem gleichen Lösungsmittel so verdünnt, dass ein Gehalt von *ca.* 0,3 mg/100 ml vorliegt. Auf etwa gleiche Konzentrationen muss eingestellt werden, wenn die Bestimmung in Lösungen des Berberins bzw. in Berberisextrakten durchzuführen ist. Die Vergleichslösung

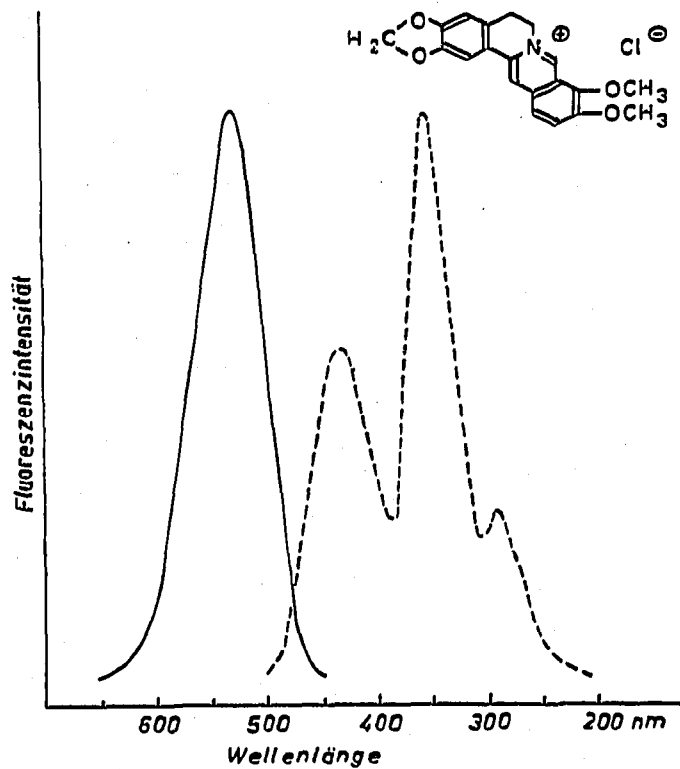


Fig. 1. Anregungs- und Emissionsspektrum von Berberinchlorid (10^{-5} g/ml Methanol "Uvasol" Merck). Messung bei 530 nm, Anregung bei 352 nm, Gerät: Aminco-Spektrophotofluorometer SPF.

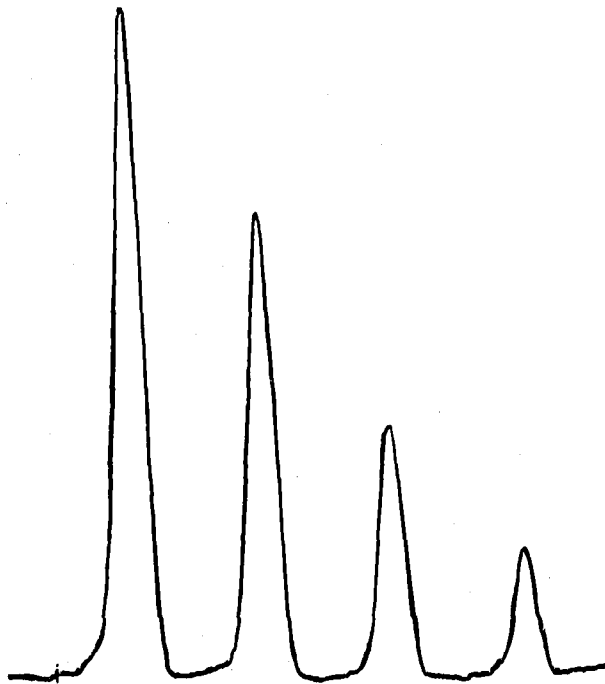


Fig. 2. Registrierte Fluoreszenzintensitäten nach dünnschichtchromatographischer Trennung (von rechts nach links: 10 ng Berberin = 208 mm^2 , 20 ng = 438 mm^2 , 40 ng = 880 mm^2 , 60 ng = 1316 mm^2).

enthält 577 μg Berberinchlorid $\cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (= 500 μg Berberin)/100 ml Methanol (80%ig) und ist durch entsprechendes Verdünnen herzustellen.

Von diesen Lösungen werden 10, 20, 30, 40, 50 und 60 ng Berberin neben zweimal je 10 μl Untersuchungslösung auf eine Kieselgelfertigplatte 20 \times 20 cm (Merck) aufgetragen. Für die chromatographische Entwicklung mit dem angegebenen Laufmittel ist die Sandwich-Kammer (Camag) eingesetzt worden, da sie infolge des geringen Kammervolumens zu reproduzierbaren R_F -Werten führt und die Laufzeit erheblich verkürzt wird.

Zur quantitativen Auswertung des Chromatogramms stand das Turner Fluorometer, Modell 111, mit DC-Messtür (Camag) und angeschlossenenem Kompensationschreiber (Metrawatt) zur Verfügung. Es wurde unter folgenden Bedingungen eingesetzt: Strahlungsquelle, 110-850; Blende, 10 \times ; Primärfilter, 110-811; Spaltbreite, 1,5 mm; Sekundärfilter, 110-818; Kassettenlaufgeschwindigkeit, 20 mm/min; Papiervorschub, 30 mm/min. Die durch die Peakflächenwerte (Höhe \times Halbwertsbreite) wiedergegebenen Fluoreszenzintensitäten lassen bis 60 ng einen linearen Anstieg erkennen (Fig. 2). Zur Auswertung des vorliegenden Chromatogramms wird aus den Flächenwerten der Vergleichspeaks eine Eichgerade erstellt und mit deren Hilfe die in 10 μl Auftragslösung enthaltene Berberinmenge ermittelt. Die auf zwei Messwerten beruhende relative Standardabweichung liegt unter 2%. Der Mittelwert des Berberingehalts in dem Untersuchungsmaterial ist zu berechnen.

Von den untersuchten Drogenmustern wurden folgende Gehalte ermittelt: Wurzelrinde von *B. vulgaris* 2.17% (China), 2.75% (Indien), 7.13% (Südosteuropa), Zweigrinde von *B. aquifolium* 2.00%, Wurzelrinde 2.52% (Deutschland).

Herrn Dr. L. TÓTH, Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, danke ich für die Aufnahme der Spektren, Frau E. M. HOERNES und Frau D. WECHSLER für die experimentelle Mitarbeit.

Kontroll-Laboratorium der
Dr. Willmar Schwabe GmbH,
75 Karlsruhe-Durlach (Deutschland)

W. MESSERSCHMIDT

I G. KURONO, K. OGURA UND K. SASAKI, *J. Pharm. Soc. Japan*, 85 (1965) 262.

Eingegangen am 25. September 1968

J. Chromatog., 39 (1969) 90-92