

分光光度法测定颠茄片中莨菪类生物碱的含量

祝 明 胡梅素(杭州 310004 浙江省药品检验所)

摘要 目的:建立用分光光度法测定颠茄片中莨菪类生物碱的含量。方法:采用在一定的 pH 溶液中,莨菪类生物碱与酸性染料溴甲酚绿定量地结合成有色离子对,用有机溶剂提取后比色测定,测定波长为 415nm,硫酸阿托品为对照品。结果:在 0 ~ 17.5 μ g/ml 浓度范围内线性良好,平均回收率为 101.1%。结论:本方法操作简便、准确、实用,可作为颠茄片的含量测定方法。
关键词 莨菪类生物碱;硫酸阿托品;分光光度法;含量测定

Determination of hyoscyamine alkaloides in belladonna tablet by spectrophotometry

Zhu Ming(Zhu M) ,Hu Meisu(Hu MS) (*Zhejiang Institute for Drug Inspection , Hangzhou 310004*)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To set up a method to determine the content of hyoscyamine alkaloides in belladonna tablet by spectrophotometry .
METHOD:Hyoscyamine alkaloides reacts with bromomethyl phenol to produce a colorful ionic couple at a certain pH solution .Product is extracted using CHCl_3 solvent and determined by spectrophotometry .The detection wavelength is 415nm .Atropine sulfuric acid is used as reference standard .**RESULTS:**The calibration curve is linear within the range of 0 ~ 17.5 μ g/ml for hyoscyamine alkaloides .The average

recovery is 101.1 % and the related standard deviation is 1.0 % . **CONCLUSION:** The method is simple , accurate and practical for the determination of hyoscyamine alkaloides in belladonne tablet .

KEY WORDS hyoscyamine alkaloides , atropine sulfuric acid , spectrophotometry , content determination

中国药典一部收载颠茄草、颠茄酊、颠茄流浸膏、颠茄浸膏及颠茄片,除片剂外,其余四种均收有含量测定项,均为酸碱滴定法。若颠茄片采用同样方法,取样量很大,每批含量测定至少要600片以上(一式二份),为此各版中国药典均没有收载含量测定项。为了有效地控制颠茄片的质量,有必要寻找更好的含量测定方法。颠茄片由颠茄草制成,颠茄草主含莨菪类生物碱,如 *l*-莨菪碱(*l*-hyoscyamine)、*dl*-阿托品(*dl*-hyoscyamine)及少量的东莨菪碱^[1]。对于颠茄草中莨菪类生物碱含量测定的方法有容量法、比色法和高效液相色谱法^[2],但未见有对颠茄片中含量测定的报道。阿托品为 *l*-莨菪碱外消旋体,其物理化学性质极为相似,并且莨菪碱在贮藏、加工和提取过程中逐渐转化为外消旋体阿托品^[2]。故本文用目前可获得硫酸阿托品对照品作为本文的对照品,在一定的 pH 溶液中,颠茄片中的莨菪类生物碱与酸性染料溴甲酚绿定量地结合成有色离子对,用一定的溶剂萃取后进行比色测定,折算求出颠茄片中莨菪类生物碱的含量。该方法样品用量少,操作简便,准确,实用,可作为颠茄片的含量测定方法。

1 仪器与试剂

岛津 UV-260 紫外分光光度仪,硫酸阿托品(中国药品生物制品检定所),溴甲酚绿、氯仿、邻苯二甲酸氢钾、氢氧化钠等均为分析纯试剂。颠茄片样品(浙江温州制药厂、河南开封制药厂和石家庄制药集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备条件的选择

考虑到颠茄片中以莨菪碱为代表的生物碱不一定以盐的状态存在,为此用加一定量 0.0125 mol/L 硫酸来溶解,使生物碱成盐,溶解于水中。与直接用水溶解比较,过滤容易,且溶液澄清,含量也较高,同批样品测定结果,加硫酸的平均每片含 0.084 mg,不加酸的每片平均含 0.080 mg,因此,提取时需要加 0.0125 mol/L 的硫酸溶液。

对超声提取的时间亦作了比较,结果超声提取 20 min 最好。

2.2 试验方法

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取在 120℃干燥至恒重的硫酸阿托品对照品 25 mg,置 50 ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 ml 含硫酸阿托品 50 μg)。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 30 片,精密称定,求出平均片量,研细,过 5 号筛,精密取适量(约 12 片量),置具塞三角烧瓶中,精密加 0.0125 mol/L 硫酸溶液 5 ml,摇匀,再精密加水 20 ml,超声处理 20 min,用干燥滤纸滤过,即得。

2.2.3 测定法 精密量取对照品与供试品溶液各 2 ml,分别置预先精密加入氯仿 10 ml 和溴甲酚绿溶液(取溴甲酚绿 50 mg 与邻苯二甲酸氢钾 1.021 g,加 0.2 mol/L 氢氧化钠 6.0 ml

使溶解,再加水稀释至 100 ml 摇匀,必要时滤过)2.0 ml 的分液漏斗中,加 2 滴 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液,剧烈振摇约 1 min,静置使分层,分取澄清的氯仿液,照分光光度法在 415 nm 波长处分别测定吸收度,计算,并将结果乘以 0.8552。

2.3 吸收波长的选择与空白试验

经对硫酸阿托品对照品和颠茄片供试品溶液测定,二者的最大吸收波长均在 415 nm,空白样品 415 nm 处无吸收,故本文选择 415 nm 为测定波长。

2.4 标准曲线绘制

本方法以硫酸阿托品为对照品,制成每 1 ml 含 0.05 mg 的溶液作为对照品溶液,精密量取 0.05、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 和 3.5 ml 分别置预先精密加入氯仿 10 ml 和溴甲酚绿溶液 2.0 ml 的分液漏斗中,并分别以水补足对照溶液至 4.0 ml 的量。按法操作,以吸收度(A)为纵坐标,浓度(C)为横坐标作标准曲线,回归得到线性方程为: $A = 0.00233 + 0.312 C$, $r = 0.9995$ ($n = 8$)。实验证明本品在 0~17.5 μg/ml 之间呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验

本方法显色比较稳定,在 5 个小时内吸光度几乎无变化。

2.6 重复性试验

取某药厂生产的颠茄片,批号为 970101 按 2.2 项下方法,测定 7 次,测定的相对标准偏差为 0.7%,说明本方法有较好的重现性。

2.7 回收率试验

取同批样品进行加样回收试验(按硫酸阿托品算),结果见表 1。本方法的平均回收率为 101.1%,相对标准偏差为 1.0%。

表 1 回收率试验结果

	称样量 / g	样品中含 量/ mg	加入硫酸阿 托品量/ mg	测得总含 量/ mg	回收率 / %
1	0.4229	0.0584	0.1016	0.1627	102.7
2	0.4227	0.0584	0.1016	0.1602	100.2
3	0.4231	0.0585	0.1016	0.1613	101.2
4	0.4227	0.0584	0.1016	0.1608	100.8
5	0.4232	0.0585	0.1016	0.1604	100.4

2.8 样品测试

本文测定了国内 3 家药厂生产的 11 批颠茄片样品,结果见表 2。

3 讨论

3.1 采用的对照品为硫酸阿托品,而测定的是莨菪类生物碱以阿托品计算,因此最后计算要乘以 0.8552 的换算因数系 1 g 硫酸阿托品相当于阿托品的量(g),换算因数由下式求得:

表 2 11 批样品总生物碱测定的结果

批 号	平均含量每片按(C ₁₇ H ₂₃ NO ₃) 计算/ mg	相对偏差/ %
911201 ^a	0.093	0.2
950602 ^a	0.079	1.0
960801 ^a	0.084	0.1
961102 ^a	0.088	0.8
961201 ^a	0.086	1.6
970101 ^a	0.083	1.0
970604 ^b	0.077	0.3
971101 ^c	0.095	0.6
971102 ^c	0.099	0.2
971103 ^c	0.092	1.4
960802 ^a	0.078	1.7

a - 浙江温州制药厂 ;b - 河南省开封制药厂 ;c - 石家庄制药厂

$$\frac{C_{17}H_{23}NO_3}{C_{17}H_{23}NO_3 \cdot \frac{1}{2}H_2SO_4} = \frac{289.42}{338.42} = 0.8552$$

3.2 如果按每片标示量为 10mg(浸膏) 和药典规定浸膏含莨菪类生物碱的量为 0.95 % ~ 1.05 % 计算,每片含莨菪类生物碱按阿托品(C₁₇ H₂₃ NO₃) 计算应为 0.095 ~ 0.105 mg。但从样

品测定的结果(表 2)看,大多数批号含量偏低,因此有必要建立含量测定方法,以控制药品的质量。

3.3 本文介绍的方法曾与中国药典现有的颠茄叶及其制剂的含量测定方法酸碱滴定法进行比较,见表 3。

表 3 二种测定颠茄片中生物碱含量的方法比较

方 法	平均值 (911201)	平均值 (950602)	平均值 (960801)
酸碱滴定法每片含生物碱/ mg	0.083	0.079	0.077
本方法每片含生物碱/ mg	0.093	0.079	0.085

从上表可以看出,本文介绍的方法测定值比酸碱滴定法要略高,取样量大大减少。酸碱滴定法对于片剂来说,每份至少 600 片以上,操作相当繁琐。本文介绍的方法具有简便、准确、实用,可用于颠茄叶及其制剂中莨菪生物碱的含量测定。

参考文献

1 陈发奎主编.常用中草药有效成分含量测定.北京:人民卫生出版社,1997.
2 王慕邹.常用中草药高效液相色谱分析.北京:科学出版社,1999:392.