

痛经片中延胡索乙素及总生物碱含量的测定

虞海红¹, 徐强²(1.杭州市西湖区城西医院, 杭州 310012; 2.浙江省中药研究所, 杭州 310012)

摘要: 目的 测定中药痛经片中延胡索乙素及总生物碱的含量。方法 采用薄层扫描法测定痛经片中延胡索乙素的含量, 以苯-石油醚(90~120 °C)-甲醇-三氯甲烷(3:3:0.5:10)为展开剂, $\lambda_S=340$ nm; $\lambda_R=380$ nm。结果 延胡索乙素在 0.12~0.84 μg 之间呈良好的线性关系; $r=0.9999$, 平均回收率为 98.9%, $\text{RSD}=1.97\%$ ($n=6$)。结论 方法简便, 快速, 准确, 重复性好, 可作为样品的检验方法。

关键词: 延胡索乙素; 总生物碱; 薄层扫描法; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)13-11-1208-03

痛经片系由延胡索、赤芍等中药经提取加工制成的片剂, 具有活血、止痛、调经的功效, 用于月经不调、痛经等症的治疗。其中延胡索是本方中的镇痛主要药物, 而延胡索乙素是延胡索中的主要成份之一, 本试验以薄层扫描法测定痛经片中的延胡索乙素的含量^[1], 方法简便快速, 重复性及稳定性均较好, 可用于本制剂的质量控制。同时采用离子对比色法测定延胡索总生物碱^[2], 以全面的控制痛经片质量及生产。

1 仪器和试剂

Perkin Elmer Lambda20 紫外可见分光光谱仪; CAMAG TLC-SCANNER3 薄层扫描仪; 痛经片(沈

阳东新药业公司, 批号: 20080915, 20080918, 20080924, 20081025, 20081104); 延胡索乙素对照品(含量测定用, 中国药品生物制品检定所, 批号: 080610); 所用试剂均为分析纯; 所用的水为超滤水。

2 方法与结果

2.1 延胡索乙素的测定

2.1.1 薄层色谱条件 固定相: 硅胶 G 薄层板; 展开剂: 苯-石油醚(90~120 °C)-甲醇-三氯甲烷(3:3:0.5:10); 显色条件: 在碘蒸气中熏 15 min, 取出后在 105 °C 烘 10 min; 扫描波长: $\lambda_S=340$ nm; $\lambda_R=380$ nm; 在此条件下, 延胡索乙素与其他组分分离良好。色谱图见图 1。

作者简介: 虞海红, 女, 主管药师 Tel: 13758270083 E-mail: hyzyhh123@163.com

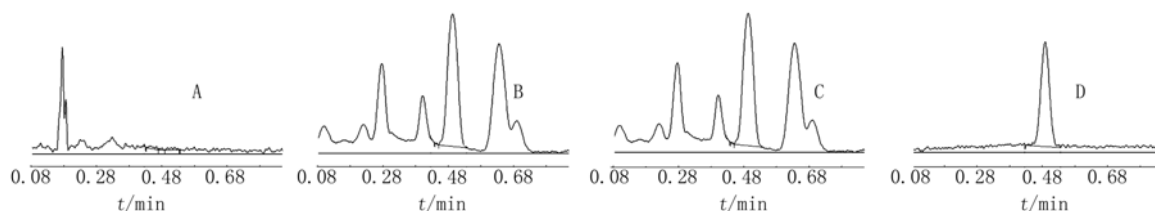


图1 薄层扫描图谱

A-空白样品; B-供试品; C-延胡索药材; D-对照品

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的延胡索乙素对照品适量,加甲醇溶解,制成每1 mL含120 μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品10片,研细,精密称取2 g,置100 mL三角锥形瓶中,加少许氨水润湿,加氯仿(20, 20, 20 mL)超声提取(15, 10, 10 min),滤过,滤渣用20 mL氯仿分2次淋洗,合并滤液,水浴蒸干,用甲醇定容至5 mL,作为供试品溶液。

2.1.4 供试品溶液的含量测定 吸取供试品液5 μL ,对照品液1, 2 μL ,分别交叉点于同一硅胶G薄层板上,按上述薄层色谱条件进行扫描,测得供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值,计算即得。

2.1.5 专属性试验 取不含延胡索乙素的缺味痛经片,按上述含量测定方法测定,记录色谱图,在对照品延胡索乙素峰的位置,无明显其他峰出现,其他成份不干扰该测定。

2.1.6 线性范围考察 精密称取对照品适量,加甲醇溶解,并制成每1 mL含120 μg 的溶液,在同一硅胶G板上,分别点以1, 2, 3, 4, 5, 6 μL ,按上述方法展开,显色后,测定其峰面积,以对照品的量为横坐标,相应峰面积为纵坐标作图,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=1\,869X+2\,118$, $r=0.999\,9$ 。结果显示延胡索乙素在0.12~0.72 μg 内呈良好的线性关系。

2.1.7 系统适用性试验 对同一对照品斑点在薄层板上反复扫描5次,结果平均峰面积为4 138, RSD为1.41%。同一浓度的样品溶液点于同一薄层板上,一共点5点,扫描得峰面积,结果平均峰面积为4 063, RSD为2.37%。同一样品点相同的量于不同的5块板上,测定其峰面积,结果平均峰面积为4 186, RSD为2.81%。结果表明精密度良好。

2.1.8 精密度试验 按拟定的方法对同一批样品进行6次平行的测定,结果延胡索乙素平均含量为

0.023 9 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD=2.1%($n=6$)。

2.1.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的供试品,分别精密添加一定量的延胡索乙素对照品(已配浓度为13.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)共2 mL,按“2.1.3”项下的方法将其制成供试品,依法进行含量测定,并进行回收试验,结果见表1。

表1 回收率试验表

延胡索乙素 原有量/mg	添加量/ mg	测得量/ mg	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/ %
0.025 4	0.027 0	0.052 6	100.7	98.9	1.97
0.026 1	0.027 0	0.053 4	101.1		
0.023 8	0.027 0	0.050 8	100.0		
0.023 7	0.027 0	0.049 8	97.0		
0.023 8	0.027 0	0.049 9	96.7		
0.024 2	0.027 0	0.050 6	97.8		

2.1.10 样品含量测定 分别精密吸取供试品液5 μL ,对照品液1, 2 μL ,依上述色谱条件测定,3批样品中延胡索乙素的含量测定结果见表2。

表2 样品含量测定

批号	20080924	20080928	20081104
含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	0.028 8	0.025 5	0.026 7

2.1.11 药材的含量测定 取不同来源的药材3批,各取0.6 g,精密称定,加浓氨水少量湿润样品,超声提取3次,每次补加氯仿20 mL,提取时间依次为20, 15, 10 min,滤过,合并滤液,浓缩至干,加甲醇溶解并定容至5 mL,精密吸取该供试品10 μL ,对照品溶液(每1 mL含120 μg 的延胡索乙素)1, 2 μL ,以下按含量测定方法测定,结果见表3。

表3 延胡索药材的含量测定

批号	20080915	20080918	20081025
含量/%	0.051	0.039	0.045

2.2 总生物碱的测定

延胡索中延胡索乙素含量较低,工艺确定中,测定总生物碱更有利于控制本品的整体质量。本方

法根据甲基橙与延胡索总生物碱生成稳定的有色离子化合物,用氯仿提取后,采用比色法测定总生物碱含量,方法简便,可行。

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品适量,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液溶解制成每 1 mL 含延胡索乙素 0.150 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 另取本品 10 片,研细,取细粉约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液 40 mL,水浴加热 20 min,时时振摇,取出放冷,加同一溶液至刻度,摇匀,过滤,取续滤液,作为供试品溶液备用。

2.2.3 供试品溶液的含量测定 吸取供试品溶液 1 mL,置于分液漏斗中,各加醋酸-醋酸钠缓冲液(取醋酸钠 18 g,加冰醋酸 9.8 mL,加水稀释至 1 000 mL 备用)10.0 mL,0.2%甲基橙溶液 1.0 mL,再加入氯仿 10 mL,振摇 3 min,静置,分取氯仿液,分别在 P.E.Lambda20 型紫外可见分光光度计上扫描,结果供试品溶液的最大吸收波长为 420 nm。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置于分液漏斗中,按上述方法操作。以第 1 管为空白,在 420 nm 波长处测定吸收度得其回归方程为 $A=0.0328C+0.0058$, $r=0.9996$ 。

2.2.5 样品测定 精密吸取供试品液(批号:

20080924, 20080928, 20081104)1 mL,按上述方法测定其吸收度,由回归方程计算出延胡索总生物碱的含量(以延胡索乙素计)。结果分别为 0.78, 0.79, 0.98 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

3.1 流动相的选择

环己烷-丙酮(7:3)分离一般,且 R_f 较小;而苯-石油醚(90~120 $^{\circ}\text{C}$)-甲醇-三氯甲烷(3:3:0.5:10)则 R_f 值适中,可使样品中的延胡索乙素有较好的分离。

3.2 扫描波长的选择

将供试品溶液点于硅胶 G 薄层板上,按本试验条件展开,显色后于薄层扫描仪上在 200~400 nm 之间进行光谱扫描,确定 λ_s 为 340 nm, λ_R 为 380 nm。

3.3 提取条件的选择

比较了乙醇、氯仿、乙酸乙酯等提取溶剂,发现氯仿能提取完全,且干扰少;乙醇提取斑点较多,扫描干扰多;乙酸乙酯提取不够完全。

参考文献

- [1] 倪晟,徐强. 薄层扫描法测定元胡止痛片中延胡索乙素的含量[J]. 中国现代应用药学, 2000, 17(5): 368-369.
- [2] 刘萍,辛勋,马汉林. 离子对比色法测定元胡止痛片中总生物碱的含量[J]. 湖北医科大学学报, 2000, 21(3): 11-12.

收稿日期: 2009-02-27