薄层扫描法测定元胡止痛片中延胡索乙素的含量

倪 晟 徐 强 章曙丹(杭州 310023 浙江省中药研究所)

摘要 目的:制定元胡止痛片中延胡索乙素的含量测定方法。方法:双波长薄层扫描法,以苯-石油醚(90~120℃)-甲醇-三氯甲烷(3∶3∶0.5∶10)为展开剂,检测波长 340nm,参比波长 365nm。结果:回收率平均为 97.6%(*RSD* = 1.79%, *n* = 5)。标准曲线 *r* = 0.9998。线性范围 0.2~1.2μg。结论:本方法简便,准确,可作为元胡止痛片的质量标准。

关键词 延胡索乙素;元胡止痛片;薄层扫描法

Assay of dl-tetrahydropalmatine in Yuanhu-Zhitong tablets by TLCS

Ni Shen(Ni S), Xu Qiang(Xu Q) (*Zhejiang Research Institute of Chinese Meteria Madica*, 310023)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To develop a method for the determination of dl-tetrahydropalmatine in Yuanhu-Zhitong Talbets. **METHOD:** dl-tetrahydropalmatine was assayed by dual-wavelength TLC-Scanning method with 340nm and 365nm as the detection and reference wavelength respectively. The malle phase was benzene-petroleum ether(60~90℃)-mtehanol-chloroform(3∶3∶0.5∶10). **RESULTS:** The average recovery was 97.6%(*RSD* = 1.79%, *n* = 5) with good linear ralationship(*r* = 0.9998). The linear range is from 0.2 to 1.2μg. **CONCLUSION:** The method is simple and accurate and can be used for the quality control of Yuanhu-Zhitong tablets.

KEY WORDS dl-tetrahydropalmatione, Yuanhu-Zhitong tablets, TLC-Scanner

元胡止痛片由延胡索、香附等药组成,有疏气止痛的功能。其中延胡索为君药,而延胡索中的延胡索乙素是其有效成分,本文以薄层扫描法测定本品内延胡索中的延胡索乙素的含量。方法简便,测定准确。

1 仪器和试药

岛津 CS-930 薄层扫描仪,定量毛细管,硅胶 G(青岛海洋化工厂),玻璃板(20×20cm 自行机械涂布,105℃活化半小时)。

延胡索乙素(中国药品生物制品检定所,含量经高效液相色谱面积归一化法测定为 97.40%)。试剂均为 AR 级。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液制备 精密称取本品 3g,置 100ml 三角锥形瓶中,加少许氨水润湿,加乙醇(40,20,15,15ml)超声(20,15,10,10min),滤过,用 20ml 乙醇分两次淋洗滤渣,合并滤液,水浴蒸干后,用无水乙醇浓缩定容至 2ml,摇匀,备用。

对照品溶液制备:取延胡索乙素对照品,加无水乙醇制成每 1ml 含 40μg 的溶液,摇匀,备用。

2.2 薄层层析和扫描条件 以苯-石油醚(90~120℃)-甲醇-三氯甲烷(3∶3∶0.5∶10)为展开剂。双波长反射法锯齿扫描:λ_S = 340nm, λ_R = 365nm。Sx = 3。

2.3 空白试验　取不含延胡索乙素的缺味元胡止痛片,按拟定方法测定,记录色谱图,在对照延胡索乙素峰的位置,无明显其它峰出现,说明其它成分不干扰该测定。

2.4 标准曲线　精密称取对照品适量,加无水乙醇溶解,并制成每 1 ml 含 40μg 的溶液,在同一硅胶 G 薄层板上,分别点 5,10,15,20,25 和 30μl 六个点,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,绘成标准曲线。回归方程式:$Y = 55542X - 281.2$, $r = 0.9998$。延胡索乙素在 0.2~1.2μg 范围内,呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验　取浓度为 40μg/ml 的延胡索乙素对照品溶液,点于硅胶 G 薄层板上 15μl,按上述条件展开,显色后,立即测定峰面积,以后每隔 30min,测定其峰面积,考察其稳定性,延胡索乙素在 7h 内稳定。*RSD* = 3.17%(表 1)。

表 1　稳定性试验

放置时间/min	峰面积	放置时间/min	峰面积
0	31929	150	33037
30	33111	240	34405
60	34112	300	35231
90	32533	360	35181
120	33049	420	34392

2.6 精密度试验　同一浓度的对照品溶液,相同的点样量,在同一块板上一共点五点测定峰面积,结果 *RSD* = 4.22%。

2.7 重现性试验　按法对同一批样品进行 6 次独立的测定,结果 *RSD* = 4.1%,重现性尚好。

2.8 回收率测定　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(浓度 16.3μg/ml)共 1 ml,按上述方法制成供试液,依法进行测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2　回收率试验

次数	样品中延原胡索乙素含量/μg	添入量/μg	测得量/μg	回收率/%	$\bar{X}$/%	*RSD*/%
1	15.3	16.3	30.9	95.7		
2	14.9	16.3	30.5	95.7		
3	15.6	16.3	31.8	99.4	97.6	1.79
4	14.8	16.3	30.9	98.8		
5	15.0	16.3	31.0	98.2		

2.9 供试品测定　吸取供试品液 10μl,对照品液 5μl,10μl,分别交叉点于同一硅胶 G 薄层板上,依法展开,取出,晾干,在碘蒸气中熏 15min,取出后在 105℃烘 10min,放冷,进行扫描,测量供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值,计算,即得(表 3)。

表 3　三批样品测定数据

批　号	含量/mg·g⁻¹
980810	0.014
980830	0.018
980915	0.024

3 讨　论

3.1 碘蒸气熏后,虽然在可见光区可以直接测定斑点的峰面积,但是由于斑点极不稳定。经查阅文献,得知此处的碘有一个氧化作用,碘熏后使延胡索乙素氧化成更具荧光的氧化物,若将碘挥去,则荧光斑点更强。经试验结果发现驱赶碘的时间须在 5min 以上,否则斑点上仍有棕色碘覆盖,在紫外下则显黑色暗斑。最后定为 10min。

3.2 提取方法的比较　选用浸渍,索氏提取,超声三个方法进行比较,结果显示:超声提取既省时,提取率又高,故选用超声提取(表 4)。提取溶媒的比较:选取用二氯甲烷,95%乙醇,石油醚(60~90℃)三种溶媒采用超声提取进行试验,超声时间皆为 15min,结果显示:采用乙醇提取率最高,故而采用该溶媒(表 5)。

表 4　提取方法的比较

方　法	超声/min		冷浸/h					索氏提取/h		
	15	25	8	16	20	24	30	8	16	至无色
含量/mg·g⁻¹	0.028	0.030	0.012	0.016	0.018	0.024	0.028	0.010	0.015	0.019

表 5　提取溶媒的比较

溶　媒	二氯甲烷	95%乙醇	石油醚(60~90℃)
含量/mg·g⁻¹	0.029	0.034	0.0015

结果显示:超声提取既省时,提取率又高,故本方法选用超声提取。

溶媒的比较:分别选取用二氯甲烷,95%醇,石油醚(60~90℃)三种溶媒采用超声提取进行试验,超声时间皆为 15min,结果见表。

结果显示:采用乙醇提取率最高,故而本标准就采用该溶媒。

3.3 将供试品溶液及对照品溶液点于硅胶 G 薄层板上,按上述条件展开,晾干,显色后于薄层扫描仪上在 200~370nm 之间进行光谱扫描。选择 λ_S 为 340nm,λ_R 为 365nm。

收稿日期:1999-01-21