

粗吻海龙中总甾体的含量测定

吴筱丹, 李士敏, 王思平*

(浙江大学药学院, 浙江 杭州 310031)

摘要: 目的 测定粗吻海龙非皂化物中总甾体类化合物含量。方法 经 Liebermann-Burchard 试剂显色后, 采用可见-分光光度法进行定量分析。结果 线性范围 0.2 ~ 2.5 mg, $r = 0.9998$, 高中低浓度日内精密密度分别为 0.44%、0.47%、0.96%, 日间精密密度分别为 1.30%、0.33%、0.75%, 高中低浓度回收率分别为 97.69%、98.91%、96.67%。结论 本法简单方便, 结果准确, 适合海龙中总甾体类化合物定量分析。

关键词: 粗吻海龙; 甾体; 比色法

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2002)07-0613-02

Determination of total steroid in *Trachyrhamphus serratus*

WU Xiao-dan, LI Shi-min, WANG Si-ping

(School of Pharmacy, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310031, China)

Key words: *Trachyrhamphus serratus* (Temminck et. Schlegel); steroid; colorimetry

粗吻海龙 *Trachyrhamphus serratus* (Temminck et Schlegel) 属海龙科动物, 具温肾壮阳、散结消肿之功效。药理研究表明粗吻海龙脂溶性的非皂化物部分具有抗肿瘤活性^[1]、激素样作用^[2]和抗衰老改善心血管功效^[3]。化学成分研究表明甾体类化合物是其重要的组成部分。本实验对粗吻海龙中甾体类成分的含量测定方法进行研究。

1 实验材料

1.1 仪器与试剂: UV-2000 紫外可见分光光度计, β -谷甾醇为 E. M. K. 进口分装, 其余试剂均为分析纯。

1.2 药材来源: 海龙购自安国药材市场, 经浙江大学药学院郭汉生教授鉴定为粗吻海龙。

2 方法与结果

2.1 显色剂的配制: 显色剂采用改良 Liebermann-Burchard 试剂。量取 20 体积乙酸酐, 塞紧, 冷却至 10℃ 以下。加入 1 体积浓硫酸, 摇匀后置于冰箱中冷却, 加入 10 体积冰醋酸后放至室温, 即得。显色剂临用配制。

2.2 对照品溶液的配制: 精密称取 β -谷甾醇 10 mg 于 100 mL 容量瓶中, 加无水乙醇溶解, 定容, 即得。

2.3 供试品溶液配制: 取粗吻海龙粗粉, 加石油醚回流提取, 回收溶剂得石油醚提取物。石油醚提取物中加入 10% KOH 醇溶液皂化, 皂化完全后, 石油醚

萃取, 合并石油醚萃取液, 回收溶剂, 即得粗吻海龙非皂化物。精密称取粗吻海龙非皂化物 300 mg 于 50 mL 容量瓶中, 加无水乙醇溶解, 定容, 即得。

2.4 标准曲线的制备: 精密吸取上述对照品溶液 2, 4, 8, 12, 15, 25 mL 于茄形瓶中, 在旋转蒸发仪中蒸干。吸取 10 mL 新鲜配制的改良 Liebermann-Burchard 试剂沿壁加入对照品溶液中, 塞紧摇匀, 水浴 30 min, 取出, 在 625 nm 处测定吸光度。计算得标准曲线方程: $A = 0.2858X + 0.00014$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.2 ~ 2.5 mg。

2.5 精密密度试验

2.5.1 日内精密度: 取高、中、低 3 个浓度供试品重复测定 5 次, 计算其相应含量, RSD 分别为 0.96%, 0.47%, 0.44%。

2.5.2 日间精密度: 取高、中、低 3 个浓度的供试品在不同天测定, 计算其相应含量, RSD 分别为 0.74%, 0.33%, 1.30% ($n = 5$)。

2.6 回收率试验: 在粗吻海龙非皂化物中加入一定量对照品, 配制成高、中、低浓底, 按 2.3 方法测定并计算回收率, 其回收率分别为 97.69%, 98.91%, 96.67% ($n = 3$)。

2.7 含量测定: 按 2.3 项下方法配制供试品溶液, 取供试品溶液 1 mL, 按 2.4 项下方法进行测定, 测得其含量为 13.89%。

* 收稿日期: 2001-10-31

基金项目: 浙江省分析测试基金资助(00119); 浙江省自然科学基金课题(395131)

* 本院 2001 届本科实习生

3 讨论

海龙是一种名贵的海洋药物, 甾体类化合物是其主要的活性成分。但由于甾体类化合物缺少特殊官能团, 给其含量测定带来难度。研究根据甾体类化合物的特征显色反应 Liebermann-Burchard 试验, 采用分光光度法对总甾体化合物含量进行测定。结果线性、精密度试验、回收率试验均较满意, 方法操

作简单, 从而为将海龙开发成新药、制定质量标准提供了参考依据。

参考文献:

[1] 吴筱丹, 李士敏, 曾 苏, 等. 海龙体外抗肿瘤活性研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 198-200.
[2] 张朝晖, 徐国均, 徐珞珊, 等. 海龙乙醇提取物的激素样作用[J]. 中药材, 1995, 18(4): 197-199.
[3] 余 敏, 吴兰如, 等. 海洋生物抗衰老作用简报[J]. 现代应用药学, 1988, 5(4): 9-11.

和胃止痛颗粒的质量控制

刘效栓¹, 李鸿彬¹, 张玉叶¹, 纪向阳¹, 郑旭东¹, 罗兴平², 王兰霞^{2*}

(1. 甘肃省嘉峪关市酒钢医院, 甘肃 嘉峪关 735100; 2. 甘肃省药品检验所, 甘肃 兰州 730000)

和胃止痛颗粒是我院研制的治疗急慢性胃肠炎、消化性溃疡的中药制剂, 由延胡索、肉桂、当归、白芍、陈皮等 10 味中药组成, 经多年临床观察, 疗效显著。本实验采用薄层色谱法对延胡索、肉桂、当归、白芍、陈皮、香附进行定性鉴别, 采用薄层扫描法对延胡索乙素进行了定量分析。

1 仪器与试药

CS-930 型薄层扫描仪(日本岛津), 定量毛细管(美国 Drummond 公司), 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂), 各对照品均购自中国药品生物制品检定所, 和胃止痛颗粒(批号: 20000721, 20000723, 20000804, 酒钢医院提供), 所用试剂均为分析纯。

2 处方与制备

2.1 处方: 延胡索 170 g, 肉桂 140 g, 木香 115 g, 白芍 115 g, 高良姜 115 g, 陈皮 90 g, 当归 70 g, 川芎 25 g, 砂仁 45 g, 香附 115 g。

2.2 制备: 处方中的 10 味中药, 除延胡索、白芍外, 其余 8 味中药均以水蒸汽蒸馏法提取挥发油, 蒸馏后的水溶液及药渣与延胡索、白芍加水煎煮 3 次, 合并煎液, 静置, 滤过, 滤液浓缩至质量体积比为 1.14 的浸膏, 取浸膏 1 份, 糊精 1 份, 蔗糖 2 份, 混和制成颗粒, 干燥, 喷加挥发油, 混匀, 密封 24 h 即得。

3 定性鉴别

3.1 延胡索的鉴别: 取颗粒 10 g, 加水 10 mL 使溶解, 加浓氨试液调至碱性, 乙醚提取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。取延胡索对照药材 1 g, 加甲醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水溶解, 照供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。取延胡索乙素对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作

为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(2 : 1.7)为展开剂, 置一浓氨试液饱和的层析缸内, 展开, 取出, 晾干, 以碘蒸气熏至斑点显色清晰, 日光下检视。结果见图 1。

3.2 肉桂的鉴定: 取颗粒 10 g, 加水 20 mL 使溶解, 加盐酸调 pH 至 2, 用乙醚提取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液。蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液。取肉桂对照药材 1 g, 加无水乙醇 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇 1 mL 溶解, 作为对照药材溶液。取肉桂酸对照品, 加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15 : 5 : 1)上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 于紫外灯下检视。结果见图 2。

3.3 当归的鉴定: 取当归对照药材 1 g, 加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照药材溶液。取阿魏酸对照品, 加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 2 种溶液与 3.2 中供试品溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上, 以正己烷-乙醚-冰乙酸(5 : 5 : 0.1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 于紫外灯(365 nm)下检视。结果见图 3。

3.4 白芍的鉴定: 取颗粒 15 g, 加水 20 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并提取液。蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取白芍对照药材 0.5 g, 加乙醇 20 mL, 振摇提取 5 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。取芍药苷对照品适量, 加乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上

* 收稿日期: 2001-11-05