

双乌止痛酊的质量控制

费建红,宋炳生,陈安兰*

(南京军区南京总医院,江苏 南京 210002)

双乌止痛酊是由制川乌、制草乌、细辛、川芎等中药制成的酊剂,具有舒筋活络、消肿止痛的功效,临床对跌打损伤有较好的疗效。本实验采用 TLC法进行定性鉴别并对有毒的乌头碱进行限量检查,方法快速、简便,用酸性染料比色法测定总生物碱含量,结果准确,重现性好。

1 仪器、药品和试剂

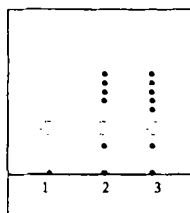
UV-754紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂);十万分之一分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司 AE240);乌头碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 0720-9807);双乌止痛酊(南京军区南京总医院制剂科);所用试剂均为分析纯。

2 定性分析

2.1 总生物碱理化鉴别: 取本品 20 mL,加氨试液 5滴,用氯仿萃取(10 mL×3),萃取液挥干,残渣加稀盐酸 1 mL溶解,转入试管中加碘化铋钾试液 2滴,呈棕红色沉淀。

2.2 阿魏酸的 TLC 取本品 10 mL挥去乙醇,加水 30 mL溶解,正丁醇萃取 3次(10 mL×3),萃取液水浴挥干,残渣加甲醇 1 mL溶解,作为供试液。取阿魏酸对照品用甲醇配成每毫升含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。取当归 2 g,加乙醇 50 mL,加热回流 1 h,过滤,水浴蒸干,用甲醇 1 mL溶解即得,作为阳性对照溶液。取供试品、对照液、阳性对照液各

10 μ L,点于同一硅胶 G薄层板上,使用展开剂苯-氯仿-甲醇(2:2:1)展开,晾干。在紫外灯(365 nm)下观察,在供试品色谱中与对照品、阳性对照品色谱相应位置上有相同颜色的蓝紫色荧光斑点(图 1)。



1-阿魏酸 2-当归

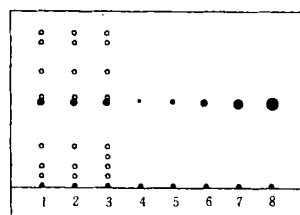
3-供试品

图 1 TLC图谱

3 乌头碱限量检查

3.1 供试品溶液的制备: 精密量取本品 20 mL,加氨试液 4 mL,振摇,放置 2 h,用乙醚振摇萃取 3次(20, 10, 10 mL),分出乙醚层,蒸去乙醚,残渣加甲醇 2 mL使溶解,作为供试品液。

3.2 对照品溶液的制备: 称取乌头碱对照品,加甲醇制成每毫升含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2000年版一部附录 VIB)试验,精密吸取供试品溶液 10 μ L,对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μ L分别点于同一 CMC-Na硅胶 G薄层板上,以氯仿-甲醇(9:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上出现棕红色的斑点,其斑点大小相当于 6 μ L对照品斑点(图 2)。



1-3供试品 4-8对照品 2, 4, 6, 8, 10 μ L

图 2 双乌止痛酊的乌头碱限量检查 TLC图谱

4 总生物碱的含量测定

4.1 溴甲酚绿溶液的配制^[1]: 取无水醋酸钠 32.9 g,加 1 mol/L醋酸溶液 20 mL,溶解后,加水稀释至 500 mL,备用。取溴甲酚绿 100 mg,用 0.05 mol/L氢氧化钠 3.5 mL,充分研磨溶解后,再加入 pH值为(6.0±0.1)的醋酸-醋酸钠缓冲液至 200 mL,过滤,即得。

4.2 供试品溶液的制备: 取本品 20 mL(批号 010611, 001210, 000624),精密量取,置水浴上挥干,用 2% 盐酸液 200 mL,分次转移置分液漏斗中,用乙醚萃取 3次(15, 10, 5 mL),弃去乙醚液,酸液用氨水调节至 pH约 10,用氯仿提取 4次(20, 10, 10, 5 mL),合并氯仿液,用水洗氯仿 2次,每次 5 mL,弃去水层,氯仿液置 50 mL量瓶中,加氯仿至刻度。

4.3 对照品溶液的制备: 精密称取经 105℃干燥至恒重的乌头碱对照品 4 mg,置 50 mL量瓶中,加氯仿使溶解,并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(每毫升含乌头碱 0.08 mg)。

4.4 最大吸收峰的确定: 在紫外可见分光光度计上

从 340~ 520 nm扫描,其最大吸收峰位于 415 nm,与文献报道相同^[2]。

4.5 标准曲线的制备:精密吸取对照液 0, 2. 0, 3. 0, 4. 0, 5. 0, 6. 0 mL分别置分液漏斗中,各加氯仿至 20 mL,再加入 10 mL pH(6. 0± 0. 1)溴甲酚绿溶液充分振摇,静置 1 h,氯仿层滤于 25 mL量瓶中,并加氯仿至刻度,于 415 nm处以不加对照品管为空白,测定吸光度,求得回归方程 $Y=1.1783X-0.0442$, $r=0.9987$,乌头碱含量在 0.1648~ 0.4944 mg 其吸光度与乌头碱的量呈良好的线性关系。

4.6 回收率试验:精密量取双乌止痛酊约 2.5 mL,加入乌头碱对照品约 1.2 mg,精密称定,按供试品溶液的制备及含量测定方法测定,结果平均回收率为 97.19%, $RSD=1.3\%$ ($n=3$)。

4.7 样品总生物碱含量测定:精密量取对照液、供试品溶液与阴性对照品液各 20 mL,分别置分液漏斗,4.5项下“各加……”依法操作,以阴性对照为空白,测定吸光度,结果见表 1。

表 1 双乌止痛酊中乌头碱的含量测定 ($n=5$)

批号	乌头碱 (mg/mL)	RSD (%)
1	0.295	3.12
2	0.267	2.45
3	0.272	1.67

5 讨论

5.1 本品中含有制川乌、制草乌,其生药含量为 20%,按每次用量 2~ 3 mL计,一日用量约 10 mL,相当生药 2 g,与该药的内服剂量相当 (1.5~ 3 g)。

生川乌、生草乌中的毒性成分是乌头碱,人口服的中毒剂量 3~ 5 mg,生药中含量分别为 0.423%、0.599%,但经炮炙后,水解成苯甲酰乌头原碱和乌头原碱,其毒性大大下降,前者仅为乌头碱的 1/50~ 1/200,后者仅为 1/2000,因此,炮炙后的制川乌、制草乌已不属毒性中药,但由于其药材来源不同,炮炙的程度不同,而使乌头碱含量不同,为保证用药安全,本品对乌头碱作限量检查,其最高限量若以对照品 10μL 作标准,仅为人口服中毒剂量的 1/20,并且本品仅作为外用制剂,应比较安全。

5.2 本品以乌头碱作出了对照品进行总生物碱的含量测定,因处方中除含有制川乌、制草乌外,还含有延胡索和川芎,经分析,川草乌中的生物碱占 63%,延胡索中的生物碱占 36%,川芎仅含 0.33%,故总碱以乌头碱作对照,用酸性染料比色法测定是可供质量控制参考。

参考文献:

[1] WS₃-B-0046-89,中成药方制剂[S].第1册.
[2] 陈其华. 中成药中乌头总碱的酸性染料比色测定法[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(8): 476-477.

冬虫夏草多糖提取工艺的优化

余晓斌¹,罗长才¹,缪静^{2*}

(1. 江南大学生物工程学院 教育部工业微生物重点实验室,江苏 无锡 214036; 2. 烟台师范学院 生物技术科学与技术系,山东 烟台 264025)

自从日本学者千原进行多糖研究以来,从一些真菌中提取生物活性物质,尤其是真菌多糖成了人们的研究热点^[1]。据药理学及临床研究表明,冬虫夏草多糖可以增强免疫力、抗肿瘤及降血糖等^[2~4]。随着人们保健意识的增强,对于虫草多糖的研究及开发也日益升温,但由于天然冬虫夏草资源的稀少,为解决严重的供需矛盾,人们采用液体深层培养法来生产虫草菌丝体,以替代天然冬虫夏草^[5]。在虫草多糖的生产过程中,涉及到虫草多糖的提取问题,为使

虫草多糖提取的质和量达到最佳化,本实验采用常用的乙醇沉析法从乙醇添加量、pH值及时间 3个因素对虫草多糖的提取进行了优化,利用 SAS 分析软件得出了回归方程,并进行了响应面分析,从而得出了虫草多糖的最佳提取工艺。

1 材料与方法

1.1 实验材料:冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* 供试菌种 CS2(自编号),通过大量筛选获得。取自 CS2 在 25 L 罐培养后的发酵液,然后将此发酵液进行减

* 收稿日期: 2001-12-20
作者简介:余晓斌(1965-),男,安徽芜湖人,副教授,硕士生导师,1985年毕业于南京大学化学系,1994年在无锡轻工大学获博士学位,1998年在韩国仁荷大学完成博士后研究,目前主持省级课题 1 项、国家“十五”攻关课题 1 项,发表论文 30 多篇,2 篇被 SCI 收录 Tel (0510) 5876272 E-mail xbyu@mail.sytu.edu.cn