

表 9 黄芪精对麻醉犬呼吸频率的影响(次/min, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	给药前	给药后(min)						
			30	45	60	90	120	150	180
空白组	5	14.60± 3.85	14.80± 3.70	14.60± 2.88	14.20± 3.27	15.20± 5.12	15.00± 4.95	13.40± 4.39	12.40± 5.03
低剂量组	5	14.60± 4.10	15.20± 4.15	14.80± 3.63	14.40± 4.04	14.80± 4.09	15.00± 4.24	15.00± 5.05	14.80± 4.87
中剂量组	5	12.20± 2.86	12.00± 3.16	11.80± 2.68	12.40± 2.19	11.80± 2.86	12.40± 1.82	12.00± 1.87	12.00± 2.45
高剂量组	5	12.40± 3.78	12.40± 3.36	13.20± 3.96	12.80± 3.77	13.00± 4.64	13.00± 4.06	13.20± 3.90	14.00± 4.06

表 10 黄芪精对麻醉犬呼吸幅度的影响(mm, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	给药前	给药后(min)						
			30	45	60	90	120	150	180
空白组	5	5.74± 0.88	5.80± 0.81	5.86± 0.96	5.82± 0.93	5.90± 0.89	5.74± 1.11	5.82± 1.06	5.86± 1.19
低剂量组	5	5.22± 1.14	5.34± 1.27	5.54± 0.93	5.50± 0.94	5.46± 0.96	5.46± 0.71	5.42± 0.70	5.42± 0.99
中剂量组	5	5.40± 0.80	5.36± 0.82	5.36± 0.86	5.28± 0.88	5.28± 0.88	5.40± 0.57	5.44± 0.83	5.36± 0.79
高剂量组	5	5.96± 1.23	5.88± 1.25	5.92± 1.27	6.16± 1.52	5.92± 1.64	6.20± 1.59	6.08± 1.47	5.84± 1.42

4 讨论

一般药理学研究主要是指研究药物主要药效以外广泛的药理学研究,是新药临床前研究的重要内容之一,既可以在临床前阶段发现该药物除主要药效作用之外的其他药理作用,也可以预测药物发生不良反应的范围和概率,为 新 药 最 终 用 于 临 床 疾 病 治 疗 提 供 科 学 理 论 依 据^[3]。犬 作 为 大 型 动 物,其 生 理 特 征 与 大 鼠 相 比 更 加 接 近 人 体,特 别 在 心 血 管 系 统,常 常 作 为 药 效 和 毒 性 研 究 的 对 象^[4-6]。其 中 在 一 般 药 理 学 研 究 中,麻 醉 犬 一 般 药 理 学 研 究 内 容 又 是 对 心 血 管 和 呼 吸 系 统 的 全 面 考 察,是 发 现 药 物 潜 在 不 良 反 应 的 重 要 手 段。黄 芪 精 虽 然 已 临 床 使 用,但 是 该 药 始 终 未 进 行 一 般 药 理 学 内 容 的 研 究 考 察,其 临 床 潜 在 安 全 性 及 潜 在 受 累 器 官 均 不 清 楚。为 了 更 好 地

对该药物的安全性进行评价,本研究考察了黄芪精对麻醉犬心血管和呼吸系统的作用,发现其对麻醉犬 SBP、DBP、MAP、HR、呼吸频率、呼吸幅度及心电图无明显改变,这提示该药物在心血管系统和呼吸系统相对比较安全。

参考文献

[1]林新艳,殷书梅,王宓,等.黄芪精对血虚症、气虚症模型小鼠的药效学研究[J].中国药业,2012,21(6):19-20
[2]朱慧,张良,喻斌,等.荆芥内酯的一般药理学研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):237-240
[3]徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学(第二版)[M].北京:人民卫生出版社,1994.643,655
[4]喻斌,阮鸣,方泰惠.脉络宁注射液对麻醉犬脑循环的影响[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(9):50-51
[5]喻斌,李宏轶,张良,等.山楂叶总黄酮对麻醉犬冠脉结扎所致心肌缺血的保护作用[J].中药新药与临床药理,2008,19(6):461-464
[6]喻斌,阮鸣,沈祥春,等.环维黄杨星 D 对麻醉犬急性心肌梗死的保护作用[J].南京中医药大学学报,2010,26(2):115-117

(收稿日期:2015-01-08)

紫外分光光度法和酸碱滴定法测定复方制剂
镇痛灵中乌头总碱含量的比较

姚 闽 汪 军

(江西省药物研究所 南昌 330029)

摘要:目的:探索含乌头类生物碱的中药复方制剂其乌头总生物碱的含量测定方法。方法:以中药复方制剂镇痛灵为研究载体,通过比较紫外分光光度法和酸碱滴定法测定乌头总生物碱的含量。结果:酸碱滴定法测定镇痛灵中乌头总生物碱的含量,其样品取样量在 1.0~3.5 g 范围内线性关系良好 R²=0.991 9(n=6),重复性 RSD=7.34%(n=6)。结论:酸碱滴定法更适合乌头总生物碱的含量测定。

关键词:乌头总生物碱;紫外分光光度法;酸碱滴定法;中药复方制剂;含量测定

中图分类号:R284

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.04.052

含乌头类生物碱的中药主要有川乌、草乌、附子等。这些中药中的乌头碱类生物碱是其镇痛作用的主要有效成分,具有很强的抗炎镇痛活性,同时具有较强的毒性,起效剂量和中毒剂量非常接近,临床应用这类中药时,除经炮制降低其毒性外,还应严格控制其用量来预防这类药物中毒事件的发生。因此,

研究含乌头类生物碱的中药在中药复方制剂中的含量测定方法彰显必要。本实验中研究的对象镇痛灵制剂是由医院制剂原生痛胶囊根据中医学理论,结合临床实践,予以加减化裁而成的中药复方制剂,由制川乌、延胡索、胡椒、白芍等中药组成,其中含乌头类生物碱的中药制川乌辛温,通行十二经,温阳祛

寒,除湿化瘀,故破积聚,温经止痛。本文比较不同的含量测定方法对其制剂中乌头总生物碱含量测定的差异,确定最优方法,为含乌头类生物碱药材的中药复方制剂中乌头总碱的含量评价提供参考。

1 仪器与试药

U-3000 型紫外 - 可见分光光度计(日本日立公司);电子分析天平 AE-240;精密 pH 计(PHS-3S);超声机(KQ-250VDB 型双频数显)。乙腈为色谱纯,其它试剂均为分析纯,水为重蒸水。乌头碱对照品:购自中国药品生物制品检定所(0844-20003,供含量测定用)。镇痛灵颗粒:自制。

2 实验方法与结果

分别采用紫外分光光度法考察样品取样量与吸光度之间的相关性和采用酸碱滴定法考察样品取样量与滴定液消耗量的相关性,以比较紫外分光光度法和酸碱滴定法在测定乌头总碱含量方面的特点。

2.1 紫外分光光度法^[1]

2.1.1 标准曲线的制备 精密称取乌头碱对照品 5 mg,置 50 ml 量瓶中,加氯仿溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液(每 1 ml 中含乌头碱 0.1 mg),精密吸取对照品溶液 1.0 ml、2.0 ml、3.0 ml、4.0 ml、5.0 ml,分别置分液漏斗中,依次精密加入氯仿至 20 ml,再精密加入 pH3.0 醋酸盐缓冲液(称取无水醋酸钠 0.15 g,加水使溶解,加冰醋酸 5.6 ml,用水稀释至 500 ml,摇匀,并在 pH 计上校正)20 ml 和 0.1%溴甲酚绿溶液(取溴甲酚绿 0.2 g,加 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 3.2 ml 使溶解,用水稀释至 200 ml,摇匀)2 ml,强力振摇 5 min,静置 20 min,分取氯仿层,用干燥滤纸滤过,同时制备空白对照,滤液分别在 412 nm 的波长处测定吸收度。以吸收度为纵坐标,对照品量(mg)为横坐标,绘制标准曲线。得回归方程:Y=1.321X+0.211 5,R²=0.995 5。结果表明:乌头碱在 0.1~0.5 mg 范围内线性关系良好。

表 1 标准曲线结果

对照品量(mg)	平均吸收度
0.1	0.329 7
0.2	0.491 8
0.3	0.618 7
0.4	0.725 4
0.5	0.873 4

2.1.2 测定法 取镇痛灵干膏粉(批号:20070326)适量,研细,分别取 1 g、2 g、3 g、4 g、5 g(各 2 份),精密称定,放入三角瓶内,加乙醚:氯仿:无水乙醇(16:8:1)的混合液 25 ml 和氨试液 1.5 ml,摇匀,放置 24 h,取出后于振荡器上振摇 5 min,取出静

置,过滤,残渣用混合液洗 3 次,合并滤液,滤液水浴蒸干,用乙醚 50 ml 溶解转移至分液漏斗中,用 0.05 mol/L 硫酸溶液萃取 4 次(每次 10 ml),分取硫酸层,过滤,合并滤液。置另一分液漏斗中,加浓氨 4 ml,摇匀,用氯仿提取 4 次(20 ml、20 ml、10 ml、10 ml),分取氯仿层,滤过合并滤液,蒸干。残渣于 105 ℃烘 1 h,取出放冷,加 pH3.0 的 NaAc-HAc 缓冲液溶解,转移并定容至 25 ml 容量瓶中,备用。精密吸取供试品溶液 20 ml 于分液漏斗中,精密加入氯仿 20 ml 和 0.1%溴甲酚绿溶液 2 ml,振摇 5 min,静置 20 min,分取氯仿层,依法测定吸收度,记录,以浸膏量和吸收度的均值做相关性分析,即得。

2.2 酸碱滴定法^[2] 精密称取镇痛灵浸膏(批号:20070326)1.0 g、1.5 g、2.0 g、2.5 g、3.0 g、3.5 g,每个重量称取 2 份,分别置于三角烧瓶中,加入乙醚:氯仿(3:1)混合液 30 ml 和氨试液 3 ml,摇匀,放置过夜。取出,过滤,残渣加乙醚:氯仿(3:1)混合液 20 ml,振荡 1 h,过滤,残渣用混合液洗 2 次,每次 10 ml,合并滤液,置水浴中蒸干,用混合液溶解,蒸干,用 5 ml 无水乙醇溶解,并转移至 25 ml 容量瓶中,精密加入 0.01 mol/L 硫酸滴定液 10 ml,加水至刻度,放置 20 min,滤过,精密吸取续滤液 10 ml 于小三角烧瓶中,加甲基红指示液 1 滴,用 0.02 mol/L 浓度 NaOH 滴定液滴定至黄色,记录所消耗的 NaOH 量,并换算成被反应硫酸滴定液的量,以浸膏量平均值与被反应硫酸滴定液量的均值做相关性分析,即得。

2.3 实验结果

2.3.1 紫外分光光度法实验结果 见表 2。以浸膏量平均值(g)为横坐标,以平均吸收度为纵坐标做相关性比较,得相关性方程为:Y=0.0107X+0.7153,R²=0.5947。

表 2 紫外分光光度法实验结果表

样品组号	浸膏量(g)	浸膏量平均值(g)	吸收度	平均吸收度
1A	1.015 7	1.027 2	0.717 9	0.733 7
1B	1.038 7		0.749 5	
2A	2.000 0	2.007 2	0.651 1	0.715 9
2B	2.014 5		0.780 7	
3A	2.942 7	2.960 8	0.793 0	0.763 6
3B	2.979 0		0.734 3	
4A	3.959 4	3.965 9	0.774 0	0.756 6
4B	3.972 4		0.739 1	
5A	5.007 9	5.027 4	0.791 4	0.767 0
5B	5.046 9		0.742 5	

2.3.2 酸碱滴定法实验结果 见表 3。以浸膏量平均值(g)为横坐标,以平均被反应硫酸滴定液的量(ml)为纵坐标做相关性比较,得相关方程为:Y=1.393 7X+0.564 6,R²=0.991 9。

(下转第 93 页)

例,有效 8 例,无效 1 例,总有效率 96.67%。说明益气养阴合剂能明显改善临床症状,副作用小。

3.10 益气养阴汤 组成:麦冬、五味子、太子参、生黄芪、当归、山茱萸、山药、黄精、熟地、僵蚕、秦艽、半枝莲、灵芝。本方具有滋阴补气、祛风清热、补血解毒之功。郑虹^[20]应用益气养阴法治热毒炽盛、阴虚内热、肝肾阴虚亏损、风湿热痹型 SLE90 例。结果证明益气养阴法可改善临床症状,提高免疫力。

综上所述,中药可明显减轻患者症状,并能有效缓解西药治疗所导致的毒副作用,提高患者生存质量。随着对 SLE 的发病机制及中医药疗效机制的不断研究,中医药在治疗及预防 SLE 方面会发挥更大的作用。但同时也应该注意到,中药治疗 SLE 的疗效机制及有效成分尚未明确,有待于进一步揭示及阐释。

参考文献

[1]李艳秋.系统性红斑狼疮的诊断标准及治疗进展[J].青海医药杂志,2014,44,(6):78-80
[2]于海峰,马红珍.马红珍治疗系统性红斑狼疮经验[J].江西中医学院学报,2013,25(1):22-24
[3]范瑞强,赖梅生,张文娟,等.系统性红斑狼疮诊疗指南[J].中国中医药现代远程教育,2011,9(11):146-148
[4]俞明珠.系统性红斑狼疮的中医病因病机探讨[D].广州:广州中医药大学,2011.5-6
[5]王维英,杨晓媛,邵燕燕,等.姚树锦治疗系统性红斑狼疮的经验[J].陕西中医,2013,34(8):1025-1027

[6]杨广.中西医结合治疗重症狼疮 30 例[J].中国中医药现代远程教育,2013,11(17):46-47
[7]陈付合.中医辨证论治为主治疗系统性红斑狼疮 40 例探讨[J].中国社区医师,2013,15(10):221-222
[8]许勇章,韦雄.中医药治疗系统性红斑狼疮的效果观察及对部分指标的影响[J].中国医药指南,2013,11(20):298-300
[9]许满秀,钱先.系统性红斑狼疮血瘀证之证治探讨[J].河北中医,2014,36(4):541-542
[10]王文生,赵玉娟.王俊志治疗红斑狼疮经验[J].实用中医药杂志,2014,30(2):158-159
[11]陈薇薇,江春春,唐华燕,等.复方生地合剂治疗系统性红斑狼疮(阴虚内热型) 的有效性与其安全性评价 [J]. 上海中医药大学学报,2013,54(1):34-36
[12]林昌松,李宁,徐强,等.知柏养阴汤联合激素治疗阴虚内热型系统性红斑狼疮 30 例[J].河南中医,2012,32(3):309-311
[13]王福祖,马辉中,周春言,等.狼疮 I 号方治疗系统性红斑狼疮 37 例[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(23):278-281
[14]赵伟刚.祛瘀滋阴汤联合强的松治疗系统性红斑狼疮随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2013,27(1):97-99
[15]赵伟刚.养阴化瘀汤联合西药治疗系统性红斑狼疮 48 例疗效观察[J].四川中医,2014,32(6):94-96
[16]吴军伟.加味知柏地黄汤治疗系统性红斑狼疮 52 例[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):324-326
[17]黎其龙,陈维广,林德.扶正解毒汤治疗系统性红斑狼疮的临床研究[J].内蒙古中医药,2014,33(15):44
[18]王冬柏.清热利湿解毒方剂用于老年系统性红斑狼疮的副作用评价[J].中国生化药物杂志,2014,34(1):130-132
[19]吴洋,陈宇,张巍琼,等.益气养阴合剂治疗气阴两伤型系统性红斑狼疮疗效观察[J].新中医,2014,46(1):51-53
[20]郑虹.益气养阴法联合糖皮质激素对系统性红斑狼疮患者免疫功能的影响[J].时珍国医国药,2014,25(4):894-896

(收稿日期:2015-01-27)

+++++
(上接第 87 页)

表 3 酸碱滴定法实验结果表

样品组号	浸膏量(g)	浸膏量平均值(g)	NaOH 消耗量(ml)	被反应硫酸滴定液量(ml)	平均被反应硫酸滴定液量(ml)
1A	0.989 7	0.993 4	8.23	1.77	1.82
1B	0.997 2		8.13	1.87	
2A	1.518 3	1.526 8	7.30	2.70	2.74
2B	1.535 4		7.23	2.77	
3A	2.004 5	2.024 0	6.45	3.55	3.42
3B	2.043 6		6.70	3.30	
4A	2.486 5	2.483 8	5.95	4.05	4.15
4B	2.481 1		5.75	4.25	
5A	3.015 3	3.007 0	5.28	4.72	4.84
5B	2.998 7		5.05	4.95	
6A	3.498 9	3.489 8	4.68	5.32	5.26
6B	3.480 8		4.80	5.20	

3 讨论

从上述两种方法的比较结果来看,在中药复方制剂中测定乌头类总生物碱的含量,以酸碱滴定法更适合,样品取样量与消耗硫酸滴定液的量具有较好的相关性($R^2=0.991\ 9$),不同称样量所测样品中乌头类总生物碱含量重复性较好($RSD\%=7.34\%$)。而使用紫外分光光度法测定镇痛灵中乌头总碱的含量,其取样量和吸收度均值之间的相关性较差($R^2=0.594\ 7$),并且实验操作复杂,误差产生较大。这与相关文献报道的结果相符合^[3]。但是滴定法测定中药复方制剂中乌头类总生物碱的含量,受到其他

成分的干扰,本次实验中同时测定了阴性样品消耗硫酸滴定液的量,通过该量计算出的乌头类总生物碱含量为 0.25%,约占所测得总浸膏中乌头类总生物碱含量(2.09%)的十分之一,所以用酸碱滴定法测定中药复方制剂样品中乌头类总生物碱含量的专属性仍需要进一步研究。

参考文献

[1]王苏会.抗风湿颗粒的制备工艺及质量标准研究[D].北京:北京中医药大学,2005
[2]国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].2010 年版一部.北京:中国医药科技出版社,2010.111
[3]何军,祝林,奉建芳.附子总生物碱含量测定方法比较[J].现代中药研究与实践,2003,17(6):20-21

(收稿日期:2014-10-22)