

## SLS-胶束荧光法测定元胡中延胡索乙素的含量

庞志功 汪宝琪 黄泓

(西安医科大学药系,西安制药厂)

**摘要** 根据胶束具有增溶增敏的作用,在10余种表面活性剂中,筛选出十二烷基硫酸钠为胶束试剂,在优化的实验条件下,对元胡中镇痛作用最强的延胡索乙素进行了含量测定研究。用国产930型荧光光度计达到了高灵敏的检测,线性范围为 $2 \times 10^{-9} \sim 8 \times 10^{-7}$  g/ml,最低检测限为 $2.5 \times 10^{-11}$  g/ml,效果良好。

**关键词** 胶束荧光法,延胡索乙素,含量测定

元胡为罂粟科紫堇属植物延胡索(*Corydalis yanhusu* W. T. Wang)的块茎,其主要成分为延胡索甲素、乙素、丙素、丁素、戊素、辛素、壬素、癸素、子素、丑素、寅素、 $\beta$ -高白屈菜碱、黄连碱、延胡索胺碱等,其中以延胡索乙素(tetrahydropalmatine)的镇痛作用较强<sup>[1]</sup>,因此对元胡中所含延胡索乙素的测定有着重要的实用价值。文献报道可以用导数光谱法<sup>[2]</sup>、紫外吸收光度法<sup>[3]</sup>、双波长扫描法<sup>[4]</sup>、容量、比色法对延胡索乙素进行测定,而未见用胶束荧光法进行测定的报道。本文利用胶束试剂能够对具有刚性分子结构的有机分子进行增溶增敏的特点,选用十二烷基硫酸钠(SLS)为胶束试剂,对延胡索乙素进行了灵敏快速的测定。其最低检测限可达 $2.5 \times 10^{-11}$  g/ml,线性范围为 $2 \times 10^{-9} \sim 8 \times 10^{-7}$  g/ml,经对3个平行样品进行12次测定,变异系数为3.03~5.13%。

### 实验部分

#### 1 仪器试剂、试材

RF-540型荧光分光光度计(日本),930型荧光光度计(上海第三分析仪器厂),快速混匀器(江苏国华仪器厂)。十二烷基硫酸钠、羟甲基纤维素、硅胶G、苯、氯仿、95%乙醇等

(西安化学试剂厂)。元胡(浙江)。

实验所用试剂均为分析纯或优级纯,所用水均为去离子双蒸水。

#### 2 实验方法

##### 2.1 前处理

准确称取烘至恒重的元胡粉末0.5008 g、0.5011 g、0.5009 g三份样品,分别置于100 ml试剂瓶中,用少许氨水润湿后,各加苯10 ml,浸泡24 h,准确移取上清液5 ml于三只具塞锥形瓶中,用冷风吹干苯液后加入苯1 ml振荡使之溶解。用微量注射器分别移取上清液30  $\mu$ l在硅胶G-羧甲基纤维素钠薄板上点样,并同时点 $2 \times 10^{-4}$  g/ml标准品20  $\mu$ l进行对照,于环己烷-氯仿-甲醇(5:3:0.5)的展开剂中上行展开。待上行12~15 cm后,将薄板取出吹干溶剂,用碘蒸气显色,画出与标准品相对应( $R_f$ 约为0.42)的绿色荧光斑点后,再在恒温箱中脱碘15 s,刮下斑点于离心管中,加入95%乙醇6 ml,进行洗脱、离心。取上清液1 ml于10 ml量瓶中用95%乙醇定容。

##### 2.2 上机测定

分别取上述样品定容液1 ml于25 ml量瓶中,加SLS饱和液4.5 ml,加pH为1.02的柠檬酸-盐酸缓冲液1 ml,加水适量在快速混

匀器上振动 1 min,再用水定容,在  $\lambda_{ex}$  为 360 nm,  $\lambda_{em}$  为 420 nm,灵敏度为 2 的条件下测定荧光强度,并用同法作随机工作曲线,进行回归计算求取含量。

### 3 结果与回收

按实验方法测得样品含量见表 1。按标准加入法求得回收率见表 2。

Tab 1. The results of determination

Sample No.	C, $10^{-4}$ g/g	CV, %	Average, $10^{-4}$ g/g	Total, $10^{-4}$ g/g
I	1 8.44	5.13	9.13	9.28
	2 9.45			
	3 9.21			
	4 9.40			
II	1 9.43	4.69	9.22	
	2 8.94			
	3 8.76			
	4 9.72			
III	1 9.40	3.03	9.49	
	2 9.72			
	3 9.10			
	4 9.73			

Tab 2. The recovery test

Sample added, ng	Standard added, ng	Determined value, ng	Recovery, %	Average recovery, %
8.124	1	9.057	93.26	97.31
8.124	2	10.187	103.23	
8.124	3	10.943	93.97	
8.124	4	12.075	98.79	

## 4 讨论

### 4.1 实验条件的选择

#### 4.1.1 激发和发射波长的选择

经在 RF<sub>540</sub> 分光光度计上进行荧光扫描,结果见图 1。当使用 SLS 为胶束试剂时,激发波长出现红移,发射波长不变,而荧光强度增强。

#### 4.1.2 胶束试剂和用量的选择

本文选择 SLS 为胶束试剂,相对荧光强度可增加 5.5 倍。实验表明选用 4.5 ml 饱和的 SLS 溶液为最佳体积。

#### 4.1.3 胶束形成介质的选择

本文先后对不同缓冲体系的不同 pH 值缓冲溶液进行了平行实验,结果表明在 pH>

2 的条件下均出现混浊或沉淀,只有在 pH 为 1.02 的条件下,既不会出现混浊,且荧光值较大。本文选择 pH 为 1.02 的柠檬酸钠-盐酸缓冲溶液作为介质。

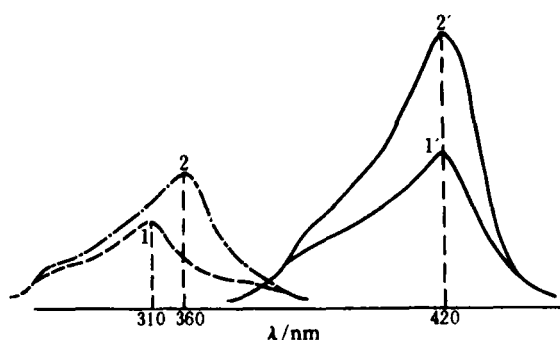


Fig 1. Fluorescent spectrum map

1—1. standard; 2—2. SLS+standard

#### 4.1.4 振荡时间和温度的选择

为了加速胶束的形成,本文在不同温度下进行不同时间的振荡,结果表明在室温下振荡 1 min 最为恰当。

### 4.2 线性范围

本文先后考查了  $2 \times 10^{-8} \sim 2 \times 10^{-9}$  g/ml 四个数量级的线性关系,结果表明在  $2 \times 10^{-9} \sim 8 \times 10^{-7}$  g/ml 3 个数量级内(增益分别为 1.2.3)呈良好的线性关系,其回归方程和相关系数见表 3。

Tab 3. Linear range

No. order, g/ml	Regression equation	Correlation coefficient
$10^{-7}$	$I_p = 1.625C + 16.05$	$r = 0.9959$
$10^{-8}$	$I_p = 1.07C + 13.25$	$r = 0.9993$
$10^{-9}$	$I_p = 1.175C + 9.3$	$r = 0.9939$

### 4.3 精密度与稳定性实验

本文选用  $2 \times 10^{-9}$  g/ml 标准液按实验方法连续测定 11 次,测得荧光强度分别为 11.8, 11.9, 11.8, 11.8, 11.9, 11.9, 11.9, 11.9, 其平均值  $\bar{x} = 11.86$ , 相对标准差  $RSD = 0.43\%$ , 最低检测限  $LOD = 2.5 \times 10^{-11}$  g/ml。

本文对  $2 \times 10^{-7}$  g/ml 标准液按实验方法每隔 1 h 测定荧光强度一次, 经 48 h 连续测定, 其荧光强度一直保持不变。

#### 4.4 固定相与流动相的选择

本文先后用硅胶 G、硅胶 GF<sub>254</sub>、硅胶 G-CMC-Na 薄板, 分别在不同的展开剂: 苯乙醇 (4:1) 与环己烷-氯仿-甲酸 (5:3:0.5) 中进行薄层色谱分离, 实验结果表明, 选用硅胶 G-CMC-Na 薄板, 环己烷-氯仿-甲酸 (5:3:0.5) 为展开剂, 分离效果最好。

为了除去薄板和展开剂中的干扰杂质, 本文经两次展开, 第一次不点样品, 用展开剂将薄板全部上行展开一次, 吹干薄板上的溶剂, 再正式点样, 上行展开, 效果极好。

#### 4.5 胶束荧光增敏的机理初探

SLS 为一种阴离子表面活性剂, 在 25℃ 下胶束临界浓度 CMC 为  $1.2 \times 10^{-3}$  mol/L, 胶束簇分子聚集个数为 40~100<sup>[5]</sup>。延胡索

乙素的分子结构属于一种刚性分子结构, 因此当待测溶液中的 SLS 浓度达到它的临界浓度时, 则可形成疏水基团向里, 亲水基团向外的胶束, 此种胶束能包含具有刚性分子结构的延胡索乙素, 并因微环境的改变而增加延胡索乙素的溶解度, 再加上胶束的保护使分子间碰撞失活现象减少, 提高了荧光量子效率, 增大了相对荧光强度, 提高了分析的灵敏度。

#### 参考文献

- 1 沙世炎、徐礼梁、严敏如等编著, 中草药有效成分分析法, 上册, 北京: 人民卫生出版社, 1985, 53
- 2 吴桥、邹健、陈玉英等, 元胡止痛片的导数荧光光谱法的测定, 药物分析杂志, 1988, 8(3), 158
- 3 王志伟、施大文、郭丽珍, 中药元胡中延胡索乙素的含量测定, 中成药研究, 1984, (10), 13
- 4 王昌利、朱志立, 陕西城固县引种元胡与浙江元胡成分分析, 西北药学杂志, 1989, 4(4), 19
- 5 郑用熙、李隆弟, 胶束增溶作用(上), 分析化学, 1989, 17(8), 760

## Study on the Content of Tetrahydropalmatine in *Corydalis Yanhusuo* by SLS-micellar Enhanced Fluorometry

Pang Zhigong, Wang Baoqi, Huang Hong

Department of Pharmacy, Xi'an Medical University; Xi'an Pharmaceutical Factory

Since micellar can improve the solubility and the sensitivity of the measurement, SLS was selected from 10 kinds of surfactants as micellar reagent. The content of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang was determined. Tetrahydropalmatine possesses high analytically activity. Linear range  $2 \times 10^{-9}$ — $8 \times 10^{-7}$  g/ml was obtained with good results by using 930 fluoroscope which was made in China. The minimum concentration for measurement was  $2.5 \times 10^{-11}$  g/ml.

**Key words** Micellar enhanced fluorometry; Tetrahydropalmatine; Determination the content