

萃取-分光光度法测定天然β胡萝卜素口服液的含量

何庆元 郭翔
(江苏省药品检验所, 南京 210008)

关键词 天然β胡萝卜素口服液; 萃取-分光光度法

β胡萝卜素属四萜类化合物,它广泛存在于多种植物之中。近年来,大量研究表明,β胡萝卜素在防治肿瘤、增强免疫功能^[1]、预防动脉硬化等方面均具有一定的作用,已为国内外所注目,USP^{XXI~XXII}版都收载其作为治疗药物,在我国β胡萝卜素制剂亦已研制成功。天然β胡萝卜素口服液即是由盐藻中提取的天然β胡萝卜素加适宜的抗氧化剂、增溶剂等制成的口服混悬液。为了制定本品的含量测定方法,笔者参照USP^{XXII}^[2]版β-胡萝卜素胶囊的测定方法,用氯仿提取,无水硫酸钠脱水,以环己烷为溶媒,对测定波长、赋形剂的干扰、回收率等进行了试验,建立了简便、灵敏、快速、可靠的含量测定法。

1 仪器与试剂

UV-265紫外可见分光光度计(日本岛津)。

天然β胡萝卜素原料(天津制盐工业研究所);吐温-80,山梨酸钾,维生素C,蔗糖黄元胶(均为药用规格,符合中国药典或卫生部标准);天然β胡萝卜素口服液(南通海神保健品有限公司);其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 测定波长的选择

天然β胡萝卜素的主要成分为全反式β-胡萝卜素,经测定,其环己烷溶液在455±1 nm处有最大吸收,与USP报道一致,见图1

(a)。经测定,天然β胡萝卜素模拟处方液及口服液经提取后扫描,均在455±1 nm处有最大吸收,与原料图谱一致,见图1(b)、(c)。为此,确定455±1 nm为本品的测定波长,并参照USP全反式β胡萝卜素的吸收系数 $E_{1cm}^{1\%}$ 为2500计算含量。

2.2 线性试验

取天然β胡萝卜素原料适量,加少量氯仿使其溶解,取不同量用环己烷稀释成分别含0.5~3.2 μg/ml的溶液,于455 nm波长处测定吸收值,结果见表1。

2.3 加赋形剂的干扰试验

取蔗糖、山梨酸钾、维生素G、黄元胶、吐温-80等辅料,按处方量配制成溶液,分别依法提取后测定,经扫描,在455 nm处均无吸收,无干扰。

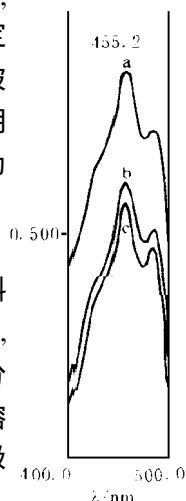


Fig 1. Spectrum of (a) Beta-carotene, (b) simulant formula, (c) oral solution

Tab 1. Relationship between Absorption and concentration

No.	C, μg/ml	Absorption	Linear regression	Regression coefficient
1	0	0		
2	1.6765	0.3681		
3	2.1555	0.4714	$y = 0.2210x - 0.012$	0.9998
4	2.3595	0.5258		
5	2.6345	0.5797		
6	3.1135	0.6848		

2.4 回收率试验

2.4.1 模拟处方液的配制 精密称取天然β-胡萝卜素约 100 mg,加 200 mg 吐温-80 研匀,使无明显颗粒,加水逐步转移至 100 ml 量瓶中,加 50 ml 赋形剂浓溶液(除吐温-80 以外的其他赋形剂,按处方量配制 2 倍浓的溶液)再加水至刻度,摇匀,即得。

2.4.2 回收率测定法 精密量取模拟处方液 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ml,分别置 50 ml 量瓶中(相当于标示量的 80%~120%),加水稀释至刻度,制成 5 种不同浓度的溶液,分别取 5 ml 置分液漏斗中,精密加氯仿 20 ml,剧烈振摇提取 5~10 min,静止约 10 min(使上层几乎无色),分取氯仿提取液置具塞试管中,加无水硫酸钠 2 g,振摇,放置数分钟,精密量取 5 ml 置 50 ml 棕色量瓶中,立即加环己烷至刻度,摇匀,取 10 ml 离心(1000 r/min) 2 min,以环己烷为对照,在 455 nm 处测定吸收度,计算回收率 结果见表 2

Tab 2 Recovery test

No.	Added, mg	Founded, mg	Recovery, %	Average recovery, %	RSD, %
1	0.333	0.326	97.9	98.5	0.87
2	0.376	0.367	97.6		
3	0.418	0.417	99.8		
4	0.460	0.453	98.5		
5	0.502	0.496	98.8		

2.5 精密度试验

取同一份样品,依法平行操作,测定 5 次,结果见表 3

Tab 3 Precision of the method

No.	Content, %	Average, %	RSD, %
1	95.04	95.7	0.46
2	95.52		
3	95.68		
4	96.16		
5	96.00		

Batch No. 940403

2.6 样品的测定

取天然β-胡萝卜素口服液 3 瓶,混匀,精密量取 5 ml,置 50 ml 棕色量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 ml 置分液漏斗中,

按“2.4.2”项下方法操作,结果见表 4

Tab 4 Assay of sample. (n= 5)

Batch No.	Cont, %	RSD, %
930101	91.4	0.5
930102	90.0	0.4
930103	90.4	0.3
940403	95.7	0.5
950404	94.9	0.6
940405	95.9	0.6

3 讨论

1) 经结构确证,天然β-胡萝卜素的紫外、红外、核磁共振、氢谱及质谱均与合成品一致。确证天然β-胡萝卜素的结构为β-胡萝卜素,且据元素分析及质谱的分子离子峰证实,天然β-胡萝卜素的分子式与分子量同 USP 收载的全反式β-胡萝卜素的分子式与分子量相符。为此,在含量测定时采用全反式β-胡萝卜素的吸收系数 $E_{1cm}^{1\%}$ 为 2500 计算含量^[3,4]。

2) 经反复试验,将供试品稀释成含β-胡萝卜素为 0.1 mg/ml 的溶液,取 5 ml 精密加氯仿 20 ml 提取,实验结果表明,提取完全,且操作简便。

由于口服液加入大量的水溶性赋形剂,因而在样品浓度及氯仿用量固定的情况下,对提取时间及振摇强度作了试验,结果表明,剧烈振摇 4 min 与一般振摇 10 min,静止后水层均为无色,且测定结果一致。考虑到操作者用力因人而异,故在测定方法中规定剧烈振摇 5~10 min。

分层后的氯仿提取液应放到盛有无水硫酸钠的试管中脱水,经试验,加无水硫酸钠 2 g 能使 20 ml 氯仿提取液变透明澄清。

取澄清的氯仿提取液 5 ml,用环己烷稀释至 50 ml,此时,溶液呈轻微的浑浊状,使吸收度偏高,带来实验误差。经试验,离心或再次加入一定量的无水硫酸钠均能使测定液澄清,本实验采用离心(1000 r/min) 2 min 的方法进行测定,简化操作,且结果准确。

4) 本法所设计的取样量,经提取、稀释后最终的测定液含 β -胡萝卜素为 $2.5\mu\text{g/ml}$ 左右,其吸收度为最适范围,且与 USP 中 β -胡萝卜素原料一致。

本法适用于其他含 β -胡萝卜素制剂的含量测定。

参考文献

1 刘公臣. β -胡萝卜素对肿瘤的防治作用. 国外医学. 中医中药分册. 1991; (4): 7
2 USP XXII, 1990, 156
3 天津市卫生局. 津 Q/TG3009-90, 天然 β -胡萝卜素. 天津市药品质量标准. 1990
4 GB8821-88 食品添加剂 β -胡萝卜素. 中华人民共和国国家标准. 北京: 中国标准出版社. 1992; Vol. 103, 373 ~ 385

Determination of the Content of Natural β -Carotene Oral Solution by Extraction Spectrophotometry

He Qingyuan, Guo Xiang
Jiangsu Provincial Institute for Drug Control, Nanjing 210008

Abstract A sensitive and rapid method for the determination of the content of natural β -carotene oral suspension by chloroform extraction-spectrophotometry was reported, in which the wavelength, interference with excipients and recovery were discussed. The results of the method showed that the newly established assay is simple, and reliable, and good linearity was obtained in the concentration range of $0\sim 4.0\mu\text{g/ml}$, with standard calibration curve $A = 0.2210C - 0.012$, and the correlation coefficient $r = 0.9998$. The average recovery was 98.5%, and the relative standard deviations were 0.9%.

Key words Natural β -carotene; Oral solution; Extraction-spectrophotometry

【文摘 050】概论碳青霉烯类抗生素的研究 顾觉奋,盛晓芳. 药学进展, 1996; 20(1): 1

碳青霉烯类抗生素不仅显示出极强的抗菌活性,极广的抗菌谱,而且对多种 β -内酰胺酶高度稳定,这是由它们独特的化学结构决定的。它们通过独特的孔蛋白 (OprD) 通道,强的 PBP_s 蛋白亲和力及显著的 PAE 等发挥高效抗绿脓杆菌活性,而且和其它 β -内酰胺类抗生素之间几乎无交叉耐药性。

【文摘 051】人工神经网络在蛋白质二级结构预测中的应用 方慧生,相秉仁,安登魁. 药学进展, 1996; 20(1): 7

应用蛋白质一级结构预测其二级结构是当前分子生物领域中最为前沿的一分支。在 20 余种预测方

法中,人工神经网络的预测效果最为成功。本文着重阐述了人工神经网络在蛋白质二级结构预测中的原理、特点及其最新进展。从所报道的文献可知,人工神经网络在蛋白质二级结构预测中有着诱人的应用前景。

【文摘 052】HIV 逆转录酶抑制剂研究进展 吴问根,王尔华. 药学进展, 1996; 20(1): 11

人体免疫缺陷病毒 (HIV) 逆转录酶 (RT) 是 HIV 从 mRNA 转录 DNA 过程中所必需的特异性酶。各种 RT 抑制剂的研制提供了一大类很有希望的抗 HIV 药物,尤其是非核苷类 RT 抑制剂的开发更是近年来令人瞩目的焦点。本文综述了 HIV RT 抑制剂研究的最新进展。