

## 薄层扫描法测定双氢青蒿素含量

山东省中医药研究所 田 櫻 刘 晓

**摘要** 本文采用薄层扫描法对不同贮存期和不同纯度的双氢青蒿素进行含量测定,结果表明,双氢青蒿素未经重结晶的样品随贮存时间的延长而含量降低。双氢青蒿素浓度在0.2—8 μg 范围内,与峰面积积分值呈线性关系,是一个灵敏度高、专属性好的测定方法。

**关键词** 薄层扫描法 双氢青蒿素

双氢青蒿素是抗疟新药青蒿素经还原而得的半缩醛化合物,抗疟作用较强。据报导,双氢青蒿素为青蒿酯钠在体内的有效代谢物<sup>[1]</sup>,而且本身也对热和光较敏感<sup>[2]</sup>。因此,为控制其质量,以及研究青蒿素衍生物体内代谢。本文采用薄层扫描法建立双氢青蒿素的含量测定方法。

双氢青蒿素含量测定尚有紫外法<sup>[3]</sup>和薄层—紫外法<sup>[2]</sup>。由于双氢青蒿素及其衍生物在碱溶液中的紫外吸收光谱的表现完全一致,因而专属性不高,尤其是久贮的双氢青蒿素,薄层上出现数个分解点,其中多为青蒿素类似结构,故干扰较大,不能应用。薄层—紫外法虽排除了分解物的干扰,但操作麻烦,通过薄层扫描法测定,得到了较好的结果,双氢青蒿素浓度在0.2—8 μg 范围内,浓度与峰面积积分值呈线性关系,变异系数最大为8.1%,是一个灵敏度高、专属性好的测定方法。

表1

编号	展 开 剂	双氢青蒿素斑点Rf值	分解点Rf值	斑 点 形 状
I	石油醚、乙酸乙酯(1:1)	0.48	0.73	长 条 形
II	氯仿、乙醚(4:1)	0.14		长 条 形
III	氯仿、甲醇(4:1)	0.38		长 条 形
IV	石油醚、乙酸乙酯(2:3)	0.54	0.81	长 条 形
V	氯仿、乙酸乙酯(4:1)	0.5	0.79, 0.86, 0.96	圆或椭圆形

## 实验部分

## 一、仪器和试剂

仪器: 岛津单波长薄层扫描仪 CS-920 型。

双氢青蒿素对照品: 实验前一周经柱层析分离出的双氢青蒿素, 丙酮重结晶二次, 减压干燥, 薄层检查为单一斑点, MP为141—142°C。本品保存于避光、低温的真空干燥器内。

不同贮存期及不同纯度的双氢青蒿素样品共9份。

## 二、实验条件的选择

## 1. 展开剂的选择:

双氢青蒿素放置较久时, 薄层上出现分解点, 选择适宜的展开剂和显色剂, 分离出分解斑点, 对双氢青蒿素的足量极为重要。如表1。

根据分解点的分离情况及  $R_f$  值适中, 和斑点的形状, 选择 V 号展开剂为适宜。

## 2. 显色剂选择:

① 对二甲氨基苯甲醛 0.5 g, 溶于 5.84 ml 85% 磷酸和 95.2 ml 冰醋酸及 40 ml 蒸馏水中, 避光保存, 喷雾用。

② 茴香醛 0.5 ml 溶于 30 ml 甲醇中(A 液)。甲醇 55 ml 加入 10 ml 冰醋酸混匀, 缓缓加入 5 ml 浓硫酸, 放冷(B 液)。AB 两液混合均匀, 阴凉处避光保存, 喷雾用。

两种显色剂均匀喷雾于薄层板上, 通风处放置, 挥干溶剂, 再置烘箱内加热显色, 二者的灵敏度均为 0.1  $\mu\text{g}$ 。其最佳加热温度和时间见表 2。

表 2

显色剂	加热温度	加热时间	斑点颜色	
			双氢青蒿素	分解点
①号	100℃	15分钟	灰紫→天蓝色	淡紫红色, 蓝灰色
②号	80℃	10分钟	紫红色→棕褐色	粉红色

显色剂均随时间的延长而颜色逐渐减淡, 本实验选用 1 号显色剂, 3—29 小时内的颜色基本属稳定态。

## 三、测定方法

### 1. 扫描参数

反射法锯齿形扫描。  $\lambda_s = 570 \text{ nm}$

光路狭缝 =  $1.2 \times 1.2$

灵敏度 = 0.5  $S_x = 3$

### 2. 线性关系

#### (1) 标准曲线的制备

精密称取双氢青蒿素对照品一定量, 氯仿溶解, 配制成 2 mg/ml 的溶液, 在硅胶 G 薄层板精确点样 1、2、3、4  $\mu\text{l}$  (相当于 2、4、6、8  $\mu\text{g}$ ), 以 V 号展开剂展开, 挥去溶剂后, 用 1 号显色剂显色, 挥去溶剂, 置 100℃ 烘箱内 15 分钟, 室温放置 3 小时扫描测定。将 2—8  $\mu\text{g}$  浓度范围内以测得的峰面

积分值为纵坐标, 双氢青蒿素浓度 ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标作图, 得一直线。5 次扫描测定数据, 得直线回归方程  $\hat{y} = -0.0125 + 1.5674x$ 。相关系数  $r = 0.998$ 。

### 3. 样品的测定

#### (1) 测定方法

双氢青蒿素对照品溶液: 同前制成 2 mg/ml 氯仿溶液。

分别精密称量不同贮存期及不同纯度的双氢青蒿素样品 9 份, 各配制成 2 mg/ml 的氯仿液。

取硅胶 G 板, 分别点样 2  $\mu\text{l}$ , 对照品 (4  $\mu\text{g}$ )。照标准曲线的制备项下方法进行, 采用外标法计算即得。

#### (2) 结果

对不同贮存期和不同纯度的双氢青蒿素样品的测定结果表明, 双氢青蒿素贮存较久时, 其含量均可下降, 尤其受其本身的纯度与贮存条件影响极大。一般经过二次重结晶的双氢青蒿素, 贮存于密封棕色瓶中, 即使二年以上, 含量仍在 95% 以上。反之, 其含量下降较大。见表 3。

## 小 结

1. 展开剂以氯仿、乙酸乙酯 (4:1) 即 V 号展开剂为佳, 双氢青蒿素斑点较圆,  $R_f$  值适中, 分解点集中在前缘, 防止了干扰。

2. 本法以对二甲氨基苯甲醛—磷酸—冰醋酸为显色剂, 具有背景干扰小, 斑点呈天蓝色, 稳定性好。

3. 从不同贮存期和不同纯度的样品测定结果看出, 双氢青蒿素随着贮存期的延长, 含量有所下降, 分解物越多。但其纯度和贮存条件是含量变化的关键。一般经过二次重结晶, 贮存于低温、密闭的避光容器中, 即使贮存二年以上含量仍在 95% 以上。

(下转第 13 页)

表3 样品含测结果

样品编号	制备年度	重结晶次数	结晶色泽	贮存条件	含量%
1 (对照品)	1987.6	2	无色透明	密封避光	100.0
2	1987.4	1	"	避光	96.0
3	1986.7	0	微黄色	普通玻璃瓶	87.5
4 (A)	1985.6	2	无色透明	棕色瓶室温	97.3
5 (B)	1985.6	重结晶后的母液析出		普通玻璃瓶室温	77
6 (C)	1985.6	1	"	"	94.3
7 (D)	1985.6	0	"	"	85.5
8 (E)	1985.6	1	淡褐色	"	85.3
9 (F)	1985.6	2	无色透明	棕色瓶密封室温	100.8
10	1984.6	0	微黄色	普通玻璃瓶室温	79.8

## 参 考 文 献

[1] 李锐等,应用气-质联用等法对青蒿酯钠体内命

运的研究,药学学报20(7):485,1985。

[2] 曾美怡等,药物分析杂志6(3):135,1986。

[3] 田樱等,山东中医院学报11(专辑2):19,1987。