

复方斑蝥胶囊质量标准的研究

米彩峰¹, 刘 珍¹, 王延琦²

(1. 陕西省中医药研究院中药所, 陕西 西安 710003; 2. 兵器工业部卫生研究所, 陕西 西安 710065)

摘要:目的: 建立复方斑蝥胶囊的质量标准。方法: 采用气相色谱法对复方斑蝥胶囊中主要成分斑蝥素进行定量分析; 同时对制剂中的主要药味人参、黄芪、刺五加进行薄层鉴别。结果: 用气相色谱法测定斑蝥素的含量, 在 0.02~0.76 μ g 范围内呈良好的线性关系, r 为 0.9995。平均加样回收率为 97.14%, $RSD=1.23\%$ ($n=5$), 薄层图谱斑点清晰, 阴性对照无干扰。结论: 方法简便, 重现性好, 可有效控制制剂的质量。

关键词: 复方斑蝥胶囊; 质量标准; 斑蝥素; 气相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)04-0013-03

Studies on Quality Standard of Fufang Banmao Jiaonang

MI Cai-feng¹, LIU Zhen¹, WANG Yan-qi²

(1. Shaanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine and Meteria Metica, Shaanxi xi'an 710003, China
2. Institute of health Research, The Department of Army Industry, xi'an 710065, China)

Abstract: Object: To establish the quality standard of Fufang Banmao jiaonang. Methods: The content of main component, Cantharidin was determined by GC method. Panax ginseng, Astragalus membranaceus and Acanthopanax senticosus were distinguished by TLC. Results: Showed the negative comparison displayed no disturbance. The founded method linearity within the range of 0.02 μ g to 0.76 μ g ($r=0.9995$). The average recovery rate was 97.14% and RSD was 1.23% ($n=5$). Conclusion: The method was available for quality control of Fufang Banmao jiaonang.

Key words: Fufang Banmao jiaonang; Quality standard; Cantharidin; GC method.

复方斑蝥胶囊由斑蝥、人参、黄芪、刺五加、山茱萸、甘草等数味中药制成, 具有破血消瘀, 攻毒蚀疮之功效。用于各类恶性肿瘤的治疗。为了更好地控制产品的内在质量, 本实验采用了 TLC 法对制剂中的人参、黄芪、刺五加进行了定性鉴别, 采用气相色谱分析法对制剂中斑蝥的主要有效成分斑蝥素进行了含量测定。

1 仪器与试验

日本岛津 GC-9AM 型气相色谱仪(FID 检测器), C-R3A 数据处理机, 日本岛津 AEL-160 型全自动分析天平。

斑蝥素(783-9402)、人参皂苷 Rg₁(0703-9813)、Rb₁(0704-9811)、Re(0754-9912)、黄芪甲苷(0781-9908)、异嗪皮啉(842-9701)对照品, 刺五加对照药材均购自中国药品生物制品检定所。复方斑蝥胶囊(批号 981101、991016、001007)由陕西省中医药研究院药剂科提供, 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 人参、黄芪的薄层色谱鉴别 取本品内容物 3.5g, 置索氏提取器中, 加氯仿 30ml, 水浴回流提取 2h, 弃去氯仿液, 取出纸筒晾干, 待氯仿挥尽, 再置索氏提取器中, 加甲醇 30ml, 水浴回流提取 4h, 回收甲醇至干, 残渣加 5% 氢氧化钠溶液 5ml 使溶解, 转至分液漏斗中, 用饱和正丁醇提取 4 次(10、5、5、5ml)合并正丁醇液, 用水洗涤 2 次, 每次 5ml, 分取正丁醇液, 蒸干, 残渣用 1ml 水溶解, 转移至氧化铝柱上(中性氧化铝 100~200 目 2g, 干法装柱, 直径 1cm, 长 9cm), 先用氯仿 30ml 洗脱, 弃去氯仿洗脱液, 再用 70% 甲醇 25ml 洗脱, 收集洗脱液于水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 对照品及黄芪甲苷对照品, 加甲醇制成每 1ml 各含 1mg 的人参皂苷混合溶液及黄芪甲苷标准溶液, 作为对照品溶液。按处方比例称取除人参、黄芪外的其他药材, 依法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB)试

验,吸取供试品溶液及阴性对照溶液各 8 μ l,对照品溶液各 4 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)于 5~10 $^{\circ}$ C 放置 12 h 的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,置 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性试验无干扰。

2.1.2 刺五加的薄层鉴别 取本品内容物 15g,加 75% 乙醇 100ml 超声提取 30min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 溶解,转至分液漏斗中,用石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)提取 2 次,每次 15ml,弃去石油醚提取液,水溶液用氯仿提取 2 次,每次 10ml,合并氯仿液蒸干,残渣加甲醇 2ml 使溶解,作为供试品溶液。取刺五加对照药材 2.5g 同法制成对照药材溶液。另取异嗪皮啶对照品适量,加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液作为对照品溶液。再按处方比例称取除刺五加外的其他药材依法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法,吸取上述四种溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇(19:1)为展开剂展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材、对照品色谱相应位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱 3.5% SE-30 不锈钢柱(内径 0.4mm,长 1.5m);载气 N₂(99.9%),流量 40ml/min,柱温 170 $^{\circ}$ C,进样口(气化室)温度 200 $^{\circ}$ C,检测器温度 200 $^{\circ}$ C;理论塔板数按斑蝥素计算应不低于 3000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取斑蝥素对照品适量,加氯仿制成每 1ml 含 0.54mg 的溶液,作为对照品溶液。

对照品溶液的稀释液:将上述对照品溶液稀释成每 1ml 含 0.11mg 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 10g,精密称定,置 500ml 圆底烧瓶中,加入 50ml 氯仿,置水浴中回流 2h,放冷,滤过,残渣加 50ml 氯仿继续热回流 2h,放冷,滤过,合并滤液,置水浴上挥干,残渣用氯仿溶解,定量转移至 2ml 量瓶中,定容,作为供试品溶液。

2.2.4 阴性对照品溶液的制备 按处方比例称取除斑蝥外的其他药材,依法制备阴性对照溶液。

2.2.5 干扰试验 照上述色谱条件,吸取供试品溶液,对照品溶液,阴性对照溶液各 2 μ l,分别依次注入气相色谱仪。供试品色谱中,在与对照品色谱相应

的位置上,有相同保留时间的色谱峰,而阴性对照色谱在此保留时间无干扰。表明处方中其它组份对测定无干扰。

2.2.6 线性关系考察 精密吸取 0.2、0.6、1.0、2.0、4.0 μ l 对照品溶液稀释液,1.0、1.2、1.4 μ l 对照品溶液,依次注入气相色谱仪,测定峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,斑蝥素量(X)为横坐标,得到一曲线,其回归方程为 $Y = 85075.65X + 4332.19$ 。 $r = 0.9995$,表明斑蝥素在 0.02 μ g~0.76 μ g 范围内线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 1.0 μ l,重复进样 6 次,测定峰面积,计算得 $RSD = 3.21\%$ 。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 1.4 μ l,供试品溶液 2.0 μ l,按上述含量测定方法,每隔 24h 测定一次峰面积,共 6 次,结果对照品的 $RSD = 1.88\%$ ($n = 6$),供试品中斑蝥素的 $RSD = 2.38\%$ ($n = 6$)。

2.2.9 回收率试验 精密称取同一已知含量的供试品 5 份,分别加入斑蝥素对照品溶液适量,按 2.2.3 项下操作,依法制备,进样,测定峰面积,计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品序号	样品中斑蝥素含量(μ g)	对照品加入量(μ g)	斑蝥素实测量(μ g)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	629.32	160	781.96	95.40		
2	608.45	160	765.83	98.36		
3	688.95	160	845.84	98.08	97.14	1.23
4	804.21	160	960.81	97.87		
5	801.95	160	955.55	96.00		

2.2.10 重现性试验 取同一批号样品(批号 001007)共 5 份,按上述方法制备供试品溶液,进行含量测定。结果: $RSD = 0.41\%$

2.2.11 样品测定 分别精密吸取对照品溶液 0.2 μ l 及 1.0 μ l,供试品溶液 2.0 μ l,依次注入气相色谱仪,计算峰面积,外标法计算斑蝥素的含量,见表 2。

表 2 复方斑蝥胶囊中斑蝥素的含量测定

批号	n	斑蝥素的含量(μ g/粒)	RSD(%)
001005	3	15.47	1.92
001006	5	16.02	0.41
001007	2	12.80	3.31

3 讨论

本实验建立的定性鉴别与含量测定方法灵敏度高,重视性好,可用于复方斑蝥胶囊的质量控制。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 165, 272.
- [2] 方伊, 张时明. 气相色谱测爱迪注射液中斑蝥素[J]. 色谱, 2000, 18(3): 270-271.
- [3] 陈运久, 刘传华, 陈沪宁. 气相色谱法测定斑蝥体内的斑蝥素的含量[J]. 山东中医杂志, 2001, 24(4): 239-240.