

乌斑抗癌中药栓剂的质量控制

郑 谊, 江立富, 马亚萍(解放军第5医院, 银川 750004)

摘要:目的:建立乌斑抗癌中药栓剂质量标准。方法:采用薄层层析法和紫外分光光度法对虎杖和斑蝥素分别进行定性及定量分析。结果:层层析法适用于虎杖定性分析,分光光度法适用于斑蝥素的定量分析。结论:TLC法和分光光度法可用于本品的质量控制。

关键词:乌斑抗癌中药栓剂;TLC法;分光光度法;质量控制

中图分类号:R927 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2001)05-0304-02

抗癌中药栓剂1997年被列为宁夏回族自治区科技攻关项目,经体外和体内对肿瘤的抑制试验表明本品有较好的抗肿瘤作用,临床应用于肝癌病人术前栓塞肿瘤血管,阻断肿瘤血供,杀伤肿瘤细胞,对缩小肿瘤便于手术起到较好的作用。本品除抑制肿瘤生长,对肿瘤细胞有杀伤力外,还能提高机体免疫力,深受医生和患者的欢迎;为控制本品质量,保证患者用药安全有效,我们对本品建立了质量控制方法,现总结如下。

1 处方组成

本品由斑蝥、虎杖、草乌等十味中草药组成,经传统和现代方法煎煮提取制成1~100 μ m微粒,灌封于10ml安瓿中,经高温灭菌备用。

2 仪器与试药

754型紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂),乌斑抗癌中药栓剂(本院自制,批号970703),斑蝥素对照品(中国药品生物制品检定所),硅胶G(青岛海洋化工厂),其他试剂均为分析纯。

3 鉴别试验

本品为褐色液体。味苦,略有沉淀。

取本品10ml加乙醇15ml充分振摇,加氯仿10ml,振摇提取,分取氯仿液蒸干,加氢氧化钠试液1滴,显红色;取上述鉴别项下氯仿提取液加醋酸乙酯10ml,振摇提取,分取醋酸乙酯,蒸干;残渣加水5ml,再用乙醚提取。分取乙醚液,挥干,残渣加乙醇10ml使溶解,取少量点于滤纸上,晾干,置紫外灯下(365nm)显亮蓝色荧光斑点;取水层,加三氯化铁试液2滴,显绿色。

另取本品10ml加热蒸干,残渣加2.5mol/L的硫酸溶液5ml,加热水解30min,冷却,用氯仿提取2次,每次5ml,合并氯仿提取液蒸干,残渣加氯仿1ml使溶

解,作为供试品溶液。另取大黄素和大黄素甲醚对照品,分别加甲醇制成每毫升含1mg的溶液,作为对照品溶液。再取虎杖粉末0.1g,加甲醇10ml,超声处理15min,滤过,滤液蒸干,余法同上制成药材对照品溶液备用。照薄层层析法试验,吸取供试品溶液、对照品溶液、虎杖药材对照液各1 μ l,分别点于同一硅胶G薄层层析板上,以石油醚(30~50 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同的橙黄色斑点;置氨气中熏蒸后日光下检视斑点为红棕色,见图1。

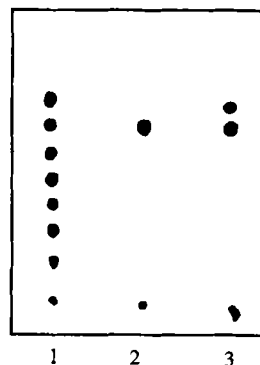


图1 虎杖薄层色谱图

1 样品 2 标准对照品 3 药材对照品

4 含量测定^[2]

4.1 对照品及供试品溶液的制备

取本品10ml,置70 $^{\circ}$ C水浴上加热,加入丙酮100ml振摇20min,滤过,滤液置70 $^{\circ}$ C水浴上浓缩,冷却至室温,溶解至100ml,精密量取1ml置湿法装置的硅胶柱上(15mm,10g硅胶)层析,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)洗脱,收集洗脱液15ml,置70 $^{\circ}$ C水浴上蒸干,残渣加氯仿溶解,置100ml容量瓶中加氯仿稀释至刻度作为供试品溶液。

4.2 线性关系

(下转第307页)

2.6 回收率实验

2.6.1 样品溶液:同含量测定。

2.6.2 对照品溶液:精密称取橙皮苷对照品 0.00320g,柚苷对照品 0.00340g 于 5ml 量瓶中用吡啶-甲醇(1:9)溶解并稀释至刻度,摇匀。

表 2 橙皮苷的回收率

样品中橙皮苷 (mg)	加入橙皮苷 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (x ± SD)
0.0622	0.0161	0.0782	99.87	
0.0631	0.0321	0.0951	99.89	99.89 ± 0.81
0.0633	0.0480	0.1112	99.91	

表 3 柚苷的回收率

样品中柚苷 (mg)	加入柚苷 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (x ± SD)
0.0833	0.0170	0.1005	100.2	
0.0832	0.0341	0.1172	99.91	100.2 ± 0.90
0.0822	0.0512	0.1341	100.49	

2.6.3 薄层层析:在 H-CMC 薄层板上分别点样品溶液 50μl,样品溶液 50μl + 对照品 25μl;样品溶液 50μl,样品溶液 50μl + 对照品 50μl;样品溶液 50μl,样品溶液 50μl + 对照品 75μl 以下同含量测定

(上接第 304 页)

精取斑蝥素 0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg,在 200~300nm 波长范围内扫描,在 298nm 处有最大吸收。另精取对照品溶液 0.2、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0ml,置 10ml 容量瓶中加氯仿稀释至刻度,摇匀,在 298nm 波长处测定吸收度。以浓度为横坐标吸收度为纵坐标绘制标准曲线,回归方程为 $Y = 24.87 - 36C$, $r = 0.9950$,结果表明斑蝥素在 0.02~0.1mg 范围内线性关系良好。

4.3 精密度试验

精取斑蝥素浓度为 0.05mg/ml 和 0.1mg/ml 溶液,分别同一天及第 2 天重复多次进样,计算日内和日间差异。结果日间精密度 ($n = 7$) RSD 分别为 2.5% 和 1.3%,日内精密度 ($n = 6$) RSD 分别为 2.1% 和 1.5%。

4.4 回收率及线性试验

取本品 10ml 制备方法同供试品溶液制备。精密量取 5ml 加入斑蝥素标准品 10.6mg,按样品测定项下操作。结果 5 次测定平均回收率为 99.3%,RSD 为 2.6%。取同一样品 5 批次,按样品测定 ($n = 3$) RSD 为 2.0%。

5 样品含量测定

取本品 10ml,提取分离方法同供试品溶液制备;按上述相同浓度测定吸收度,依标准曲线计算含

量,测得吸收度,计算回收率。橙皮苷的回收率为 99.89%,柚苷的回收率为 100.2%,结果见表 2、3。

7 小结与讨论

本文利用 TLC-双波长分光光度法同时测定了枳壳中的橙皮苷和柚苷,方法快速,结果准确,重现性好。由于枳壳的产地收获的季节以及炮制工艺的不同所得结果会有所不同。刮取板条前,展开剂一定要挥尽,否则将影响含量测定,致使结果偏低。

致谢山东中医药研究所杨树斌教授指导,在此表示感谢。

参考文献:

[1] 中药大辞典. 江苏新医学院编,1507.
 [2] 王宪楷,赵守训,潘德济等. 天然药物化学,275.
 [3] Nothover B. J. et al; Brit. J. Pharmacol. 1962;18:340.
 [4] Borkowski B. et al; Pharm. Zentralhalle. 1960;99:208.
 [5] Trifiro et al; Ind. Conserver. 1980;55(3):194.
 [6] Fisher J. F. et al; J. Food Sci. 1966;31(6):974.
 [7] Drawert F. et al; Anal. chem. 1966;217(1):22.

收稿日期:2000-05-17

量,结果见表 1。

6 讨论

表 1 乌斑抗癌中药栓塞剂中斑蝥素含量测定 ($n = 3$)

批号	含量 (mg/ml)	RSD (%)
970701	0.17	1.0
970702	0.16	0.98
970703	0.17	1.1
970903	0.17	1.2
971015	0.15	0.99
971015	0.16	1.0

据文献报道,斑蝥素有一定的挥发性,因此本文样品处理操作过程中始终保持密闭的原则,样品暴露时操作速度要快,尽量减少操作过程中样品与空气的接触时间;我们在实验过程中对 5 份标准品和样品均按样品方法处理前后的含量数据进行统计学处理,结果表明,样品处理前后含量无显著性差异。试验中我们比较了不同溶剂对斑蝥素的洗脱能力,结果以石油醚、氯仿为佳,且洗脱时间短,故采用石油醚为洗脱剂。制备过程中要保持该栓塞剂中 1~100μm 的微粒才能较好地栓塞肿瘤动脉,否则栓塞局部易吸收,以致重新建立血液循环,造成栓塞失败。本品临床应用中深受医师和患者的欢迎,成品价廉,质量易控制,方法快捷,具有实用性。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2000 版一部. 2000:31~32.
 [2] 王泽民. 当代结构药物全集(下册)[M]. 北京:北京科学技术出版社. 1993:2125~2126. 收稿日期:2001-04-13