



灵猫香解毒丸的质量标准研究

郑成^{1,2*}, 郑彬彬³, 姚彤炜¹

(1. 浙江大学药学院, 浙江杭州 310080; 2. 浙江省药品检验所, 浙江杭州 310004;
3. 温州医学院附属二院, 浙江温州 325000)

[摘要] 目的:制定灵猫香解毒丸的含量测定标准。方法:采用反相高效液相色谱法测定蟾酥中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基。结果:华蟾酥毒基和酯蟾毒配基分别在 48.84 ~ 784.44, 50.28 ~ 804.48 ng 与峰面积呈良好线性关系, 平均回收率 100.5%, 100.3%。结论:本实验定量方法简便、实用, 重复性好, 能够较好地控制灵猫香解毒丸的质量。

[关键词] 灵猫香解毒丸; 华蟾酥毒基; 酯蟾毒配基; 高效液相色谱

灵猫香解毒丸标准收载于卫生部药品标准中药成方制剂第 20 册, 处方由珍珠、人工牛黄、灵猫香、蟾酥、冰片和雄黄等 6 味中药组成。现行标准无含量测定项目, 现按照国家药品标准提高行动计划要求, 研究对原标准进行提高, 采用 HPLC 法测定蟾酥中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的含量, 以更好的控制该品种的质量。

1 材料

Agilent 1100 系列型高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, HP-Chemstation 色谱工作站。电子分析天平 (Mettler 240 型, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

华蟾酥毒基 (批号 110803-200504)、酯蟾毒配基 (批号 110718-200507) 对照品均由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。薄层色谱用硅胶 G 板 (青岛海洋化工厂)。灵猫香解毒丸 (太极集团浙江东方制药公司, 批号 18040001, 18040002, 18040003, 18040004, 18040005)。

2 华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的测定

2.1 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 乙腈-水 (49:51); 检测波长 296 nm; 柱温 30 °C; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 取华蟾酥毒基和酯蟾毒配基对照品适量, 精密称定, 分别加无水乙醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 1 g, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入无水乙醇 10 mL, 称重, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 再称重, 用无水乙醇补足失重, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 取缺蟾蜍阴性样品, 按供试品溶液制备法, 制成阴性样品溶液。

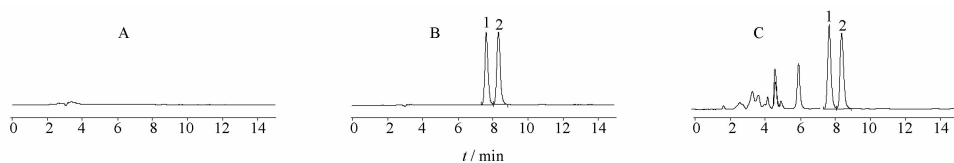
2.5 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液, 注入液相色谱仪, 结果见图 1。华蟾酥毒基的出峰时间为 7.68 min, 酯蟾毒配基的出峰时间为 8.38 min, 理论塔板数分别为 9 820, 9 650, 分离度为 2.4, 阴性样品对主峰无干扰。

2.6 标准曲线的制备 分别精密吸取华蟾酥毒基对照品溶液 (4.884, 13.024, 19.536, 39.072, 48.84, 78.144 mg · L⁻¹) 和酯蟾毒配基对照品溶液 (5.028, 13.408, 20.112, 40.224, 50.28, 80.448 mg · L⁻¹) 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定。以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的积分值为 X, 进样量为 Y (ng), 分别得回归方程 Y = 1.282 5X (r = 1.000 0, n = 6) 和 Y = 1.228 7X (r = 0.999 9, n = 6), 结果表明华蟾酥毒基在 48.84 ~ 781.44 ng, 酯蟾毒配基在 50.28 ~ 804.48 ng 呈良好线性关系。

2.7 重复性试验 取同一批供试品 (批号 18040001) 6 份, 按供试品溶液制备法制备, 结果华蟾酥毒基平均质量分数为 5.87 mg · g⁻¹, RSD 1.6%, 酯蟾毒配基平均质量分数为 5.40 mg · g⁻¹, RSD 1.6%。

[收稿日期] 2009-09-10

[通信作者] * 郑成, 主管中药师, 主要从事中药质量研究, Tel: (0571) 86459425, E-mail: joeff20@yahoo.com.cn



1. 华蟾酥毒基; 2. 酯蟾毒配基。

图 1 阴性样品(A)、对照品(B)、灵猫香解毒丸(C)的 HPLC 图

2.8 精密度试验 精密吸取同一供试品(批号 18040001)溶液,注入高效液相色谱仪,重复进样 6 次,测定华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的峰面积, RSD 0.5%, 0.7% ($n=6$)。

2.9 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液,每间隔一定时间进样 1 次。结果 RSD(华蟾酥毒基) 0.5% ($n=7$), RSD(酯蟾毒配基) 1.0% ($n=7$), 表明供试品溶液在 32 h 内基本稳定。

2.10 加样回收率试验:精密称取已知含量的样品(批号 18040001)9 份,每 3 份分别精密加入华蟾酥毒基($48.74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和酯蟾毒配基($49.90 \text{ mg} \cdot$

L^{-1})混合对照品溶液 4,5,6 mL,按正文供试品制备法制备,并依法测定,结果华蟾酥毒基回收率 100.5%, RSD 1.5% ($n=9$); 酯蟾毒配基回收率 100.3%, RSD 1.5% ($n=9$)。

2.11 样品测定 对太极集团浙江东方制药有限公司的 5 批样品(批号 18040001, 18040002, 18040003, 18040004, 18040005)分别制备供试液,进行测定,见表 1。根据测定数据,限度暂定为本品每克含蟾酥以华蟾酥毒基($\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_6$)和酯蟾毒配基($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4$)的含量之和计,不得少于 6.0 mg。

表 1 灵猫香解毒丸中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基测定

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

批号	华蟾酥毒基	酯蟾毒配基	华蟾酥毒基 + 酯蟾毒配基
18040001	5.87	5.40	11.3
18040002	5.70	5.24	10.9
18040003	5.58	5.25	10.9
18040004	5.86	5.40	11.3
18040005	5.54	5.10	10.6

3 讨论

3.1 测定波长的选择 分别取华蟾酥毒基对照品溶液($48.74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和酯蟾毒配基对照品溶液($49.90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),在 200~400 nm 扫描,结果分别在 294.5, 298.0 nm 处有最大吸收,与现行版药典收载的蟾酥药材华蟾酥毒基和酯蟾毒配基测定的波长 296 nm 均较接近,故取 296 nm 作为检测波长^[1]。

3.2 流动相的选择 采用甲醇-0.5% KH_2PO_4 溶液(85:15)、甲醇-0.5% KH_2PO_4 溶液(75:25)、乙腈-0.5% KH_2PO_4 溶液(50:50)、乙腈-水(44:56)、乙腈-水(49:51)和乙腈-水(54:46)为流动相进行比较,

色谱柱为 Dikma Diamonsil C_{18} , 结果以上条件均可获得满意分离效果,考虑到简便性和保护色谱柱,采用乙腈-水(49:51)为流动相。

3.3 色谱柱的选择 采用 Agilent Extend C_{18} , 大连依利特 C_{18} , Dikma Diamonsil C_{18} (均为 4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 3 种色谱柱对样品进行测定,流动相为乙腈-水(49:51)。结果不同厂家色谱柱对测定结果影响不大。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005:4, 98, 265.

Study on quality standards for Lingmaoxiang Jiedu pills

ZHENG Cheng^{1,2*}, ZHENG Binbin³, YAO Tongwei¹

(1. *College of Pharmaceutical Sciences; Zhejiang University, Hangzhou 310080, China;*

2. *Zhejiang Institute for Food and Drug control, Hangzhou 310004, China;*

3. *Zhejiang Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)*

[**Abstract**] **Objective:** To establish the quality standards of Linmaoxiang Jiedu pills. **Method:** Cinobufagin and bufogenin were determined by HPLC simultaneously. **Result:** The average recoverys of Cinobufagin and bufogenin was 100.5% and 100.3%, their linear range were 48.74-731.10 ng and 49.90-748.50 ng, respectively. **Conclusion:** The method for quantification is reproducible and realizable. The method can be used to control quality of Linmaoxiang Jiedu pills as the quality standards.

[**Key words**] Lingmaoxiang Tiedu pills; cinobufagin; bufogenin; HPLC

doi: 10.4268/cjcmm20100311

[责任编辑 周驰]