

六神丸中蟾酥含量测定研究

杭州胡庆余堂制药厂 袁漓芝 郝引飞*

六神丸乃我国传统成药,多年来一直缺乏内在质量标准,蟾酥是其主药之一,具有显著的抗炎、强心、解毒等疗效。为此我们对六神丸中蟾酥含量测定方法进行了研究。本文采用薄层扫描法测定六神丸中蟾酥的脂蟾毒配基含量,作为蟾酥的定量标准。

实验部分

一、仪器与药品

仪器 日本岛津 CS-930型双波长薄层色谱扫描仪。

涂铺器 瑞士CAMAG涂铺器。

定量毛细管 美国Drummond厂。

硅胶G 青岛海洋化工厂。TLC规格。

标准品 脂蟾毒配基(Resibufogenin)。

卫生部药品生物制品检定所提供。

六神丸样品 本厂提供。

二、测定方法

1. 样品液的制备

精密称取已研细成粉末的六神丸0.5g置索氏提取器中,加 CHCl_3 30ml回流6hr,将提取液浓缩后移至5ml量瓶中。用 CHCl_3 稀释至刻度。

2. 标准液制备

精密称取脂蟾毒配基(Resibufogenin)标准品5.0mg于5ml量瓶中,用 CHCl_3 溶解并稀释至刻度。

3. 薄层色谱

取20g硅胶G,加0.5%CMC-NA溶液58ml,混合调成糊状,用涂铺器铺板6

块(20×20cm)板厚0.3mm,室温晾干,105℃活化1hr,备用。取标准液,样品液各1 μl 点样于上述薄层板上,以丙酮—氯仿—环己烷(1.5:3.5:6)上行展开(预先饱和15分钟),待溶剂前沿上升至14cm,取出挥去液剂后,扫描测定。

4. 扫描条件及测定

双波长反射法锯齿扫描; $\lambda_S = 296\text{nm}$, $\lambda_R = 370\text{nm}$;狭缝:1.2×1.2; $S_x = 3$;灵敏度:中等;背景校正:“ON”。

将六神丸样品的薄层层析板按上述条件进行分离扫描,结果见图1。根据图谱求出分离度为1.53,故脂蟾毒配基与相邻成分完全分开。

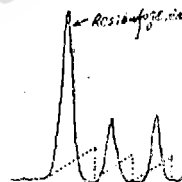


图1 六神丸样品液分离扫描图谱

5. 线性试验

用定量毛细管分别取标准液0.5 μl 、1.0 μl 、1.5 μl 、2.0 μl 于薄层板上,按样品测试条件层析、扫描。结果见表1。

表1 标准曲线测定结果

点样量(μl)	0.5	1.0	1.5	2.0
浓度C(ng)	552	1104	1656	2208
斑点面积A	22026	35219	48091	60845

* 浙江医科大学87届毕业生

线性回归方程:

$$C = -393.12 + 0.0427A$$

$$r = 0.99997$$

两者在0.5~2.0 μ g之间呈线性关系。

6. 重现性试验

对同一批号样品提取、制备样品液5份,按样品测试条件测定含量。见表2。

7. 回收率试验

取六神丸样品液和标准液各1 μ l,共点于

表2 重现性试验结果

No	测定值(ng)	含量 %	
1	968.74	0.78	
2	1004.27	0.76	$\bar{x} = 0.76\%$
3	1006.27	0.79	$\sigma_{n-1} = 0.0207$
4	895.98	0.74	$C_V = 2.72\%$
5	889.03	0.75	

薄层板上,另择原点,同样点样,层离后直接扫描测定。并计算样品的加料回收率(见表3)。

表3 回收率试验结果

No	加入标准品量 ng	样品量 ng	测得量 ng	回收率 %	
1	1104.00	926.43	2018.999	98.96	$\bar{x} = 98.27\%$
2	1104.00	926.43	2048.668	101.65	$\sigma_{n-1} = 2.83$
3	1104.00	926.43	2004.149	97.62	$C_V = 2.88\%$
4	1104.00	926.43	1973.584	94.85	

8. 稳定性试验

对待测成分斑点,每隔一定时间扫描一次,结果见表4。

表4 稳定性试验结果

时 间 (小时)	0	1	2	3	4
浓 度 (ng)	867.47	866.40	853.87	848.75	849.00

待测成分在四小时内含量基本稳定,故展开后薄层板放置时间长短对测定无明显影响。

三、含量测定结果

按照上述方法,对本厂几个批号的六神丸样品进行薄层扫描测定。见表5。

表5 含量测定结果

No	批 号	含 量 %
1	820217	0.61
2	840421	0.62
3	850825	0.71
4	860228	0.73
5	870214	0.76

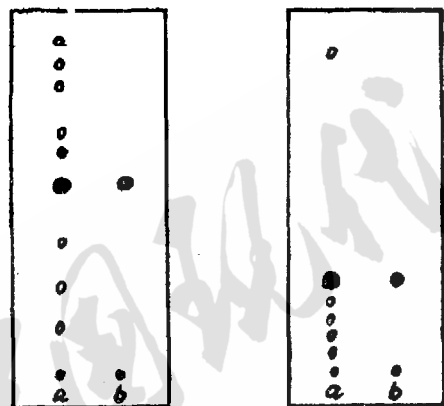
* 上述含量分别为二次平均值。

四、讨 论

1. 根据文献记载^[2],脂蟾毒配基在紫外光下有吸收,故可不用显色剂直接进行扫描测定,斑点面积值稳定。但考虑到观察方便,采用20%三氯化铋氯仿溶液^[3]喷雾显色,105℃烘箱烘10min,在紫外灯下观察,各斑点清晰可见。

2. 在比较不同展开剂的分离效果上,试验了二种溶剂系统:(A)丙酮—氯仿—环己烷(3:3:4)^[4],(B)丙酮—氯仿—环己烷(1.5:3.5:6),两者分离效果都较好,见图2。但脂蟾毒配基在两种溶剂中的 R_f 值不等,由于(B)系统的 R_f 值较小,斑点不易扩散,定量误差较小,因而采用(B)系统作为展开剂。

3. 本法测定了我厂不同年份5个批号的六神丸样品,脂蟾毒配基的含量为0.61~0.76%,表明生产工艺基本稳定。同时,我们还测定了兄弟厂的同类产品,结果见表6,以供厂内制订质量控制标准参考。



a. 六神丸样品液
展开剂(A) $R_f = 0.68$

b. 标标液
展开剂(B) $R_f = 0.32$

图2 六神丸薄层层析图

表6

№	生产厂家	含量 %
1	上海×厂	1.63
2	苏州×厂	0.61
3	武汉×厂	0.52
4	浙江×厂	0.40

参 考 文 献

- [1] 章育中等,《药物分析杂志》1984, 4(6), 321.
 [2] 久保喜一等,《药学杂志》(日)1977;97(3), 274.
 [3] 徐礼乘等,《中草药有效成分分析法》下册, 人民卫生出版社, 1984年。