

参附注射液质控指标的研究

—附子总生物硷的含量测定

河北省医学科学院 李兰芳

宁波市微循环与莨菪类药研究所 蓝庆荣

提 要 附子及其复方制剂中的总生物硷在 pH4.3 的缓冲液中与溴甲酚紫形成离子对, 用二氯甲烷提取后可进行比色测定。结果准确重现性好。可作为复方参附注射液的质控指标。

参附注射液是由红参和黑附片组成。近年来, 国内对其药理、临床治疗和制剂工艺等均有报道^[1-4]。我们曾报道过参附注射液中人参总皂甙的含量测定方法^[5]。关于附子总生物硷的测定方法国内曾做过一些工作^[6-7]。而参附注射液中总生物硷的含量测定方法未见报道。本文研究了附子及其复方制剂中总生物硷在 pH4.3 缓冲液中与溴甲酚紫形成离子对, 用二氯甲烷提取后比色进行含量测定。进一步完善了参附注射液的质控标准。

实验部分

一、药品、试剂与仪器

红参(一级参, 吉林省清字县); 黑附片(80年和82年分二批由四川江油县购入); 乌

头硷(E. Merck); 指示液按中国药典 1977 年版二部附录 127 页配制; 附子注射液(下简称附子液); 参附注射液(下简称参附液)均由我院植化室制备。

化学试剂均为分析纯或化学纯规格。

751 G 分光光度计(上海分析仪器厂)。

二、测定条件的选择

1. 酸性染料、缓冲液的 pH 值和有机溶剂的选择

曾试用了五种常用的酸性染料: 溴甲酚紫、溴香草酚兰、甲橙、溴麝香草酚兰和溴甲酚绿。缓冲液的 pH 从 3—5.9。有机溶剂: 二氯甲烷、苯甲苯、含 1% 异丙醇苯、氯仿。采用正交设计方法设计了三因素五水平的正交方案, 经过 25 次实验筛选。实验结果经直观分析和方差分析确定指示剂溴甲酚紫、有

机溶剂二氯甲烷及缓冲液 pH4.3 为比色法测定乌头类生物硷的最佳条件。

测定方法：精密量取 1.0ml 乌头硷标准液，置 50ml 干燥分液漏斗中，加入不同 pH 的缓冲液 5.0ml，指示液 2.0ml，加水至水相体积为 12.0ml，混匀，准确加入有机溶剂 10.0ml，剧烈振摇，静置 1 分钟使水层与有机溶剂层完全分离后，分出有机溶剂层置 1cm 吸收池于波长 400nm 处用 751G 分光光度计测定吸收度。以同样操作的试剂空白作对照。

2. 吸收光谱

精密量取 1.0ml 乌头硷标准液，加 pH4.3 缓冲液 5.0ml，溴甲酚紫指示剂 2.0ml，加水至水相体积 12.0ml，混匀，再准确加入二氯甲烷 10.0ml 振摇 1 分钟，取二氯甲烷液置于 1cm 吸收池中用 751 分光光度计分别于波长 320~460nm 范围内测定吸收度，同样做空白对照。结果在波长 400nm 处有最大吸收。

3. 指示剂用量的影响

精密量取 1.0ml 乌头硷标准液若干份，依次加 pH4.3 缓冲液 5.0ml，溴甲酚紫指示液 1.0、1.5、2.0、3.0、4.0ml，如上操作。结果说明指示液用量在 2.0—4.0ml 之间，所测吸收值最大(0.959)。

4. 显色稳定性

取 1.0ml 乌头硷标准溶液同法处理后，放置不同时间(15分—165 分)测定吸收度。反应 60 分钟以后，在 105 分钟内吸收度均稳定。

实验结果表明，在缓冲液 pH4.3 时，溴甲酚紫能与附子总生物硷结合并被二氯甲烷提取，且显色灵敏度较高，在 60—105 分钟，于 400nm 处进行比色测定为宜。

三、测定方法

1. 标准曲线

精密称取 20.60mg 乌头硷标准品，于

100ml 容量瓶中，加少许 0.1N 盐酸使溶，用蒸馏水稀释至刻度。精确量取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2ml 标准液、按上述操作测定吸收值。五次测定平均值，经回归处理：

$$a = -0.02388$$

$$b = 4.7656$$

$$y = -0.02388 + 4.7656x$$

$$r = 0.9999$$

在本方法条件下，乌头硷在 0.0412—0.2408mg 符合比尔定律。

2. 样品测定

(1) 样品制备：精取参附注射液 10ml 加 10% 氨水硷化至 pH10 以上，加氯仿：乙醚(3:1)萃取 5 次(20、20、10、10、10ml)收集氯仿—乙醚液并回收溶剂，残留物加少量 0.1N 盐酸溶解后转入 10ml 容量瓶中，加水至刻度，待测定。

(2) 样品的测定

精密量取适量不同批号的参附液提取液和附子液一同依上述酸性染料—比色法测定。结果如表 1。

表 1 附子、参附注射液、
总生物硷含量*

品名	批号	附子含量 (g/ml)	总生物硷含量** (mg/ml)
附子注射液	800604	2.0	0.9280
	810505	1.0	0.4820
	8221106	1.0	0.3890
参附注射液	800601	1.0	0.2470
	810501	0.5	0.0838
	810502	0.5	0.1480
	821101	0.5	0.0536
	790604	0.16	0.0309

• 301 医院生产。

•• 为 5 次测定均值。

3. 回收实验

量取已知浓度的参附液 10ml (每 ml 含总生物硷 0.1178mg)，共取 5 份。分别加入乌

(下转 45 页)

(上接第36页)

头砷标准液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml (每ml 含乌头砷 0.206mg), 依制备样品时同法处理。精取其中 1ml 测定吸收值并计算回收率。结果见表 2。平均回收率为 $96.75 \pm 2.824\%$ 。

表 2 回收率试验结果

样品	已知生物砷量 (mg)	加入乌头砷量 (mg)	回收总生物砷含量 (mg)	回收率 (%)
1	0.1178	0.0206	0.1332	96.24
2	0.1178	0.0412	0.1727	92.06
3	0.1178	0.0618	0.1778	99.05
4	0.1178	0.0824	0.1961	97.95
5	0.1178	0.1030	0.2174	98.46
				96.75 ± 2.82

讨 论

1. 实验结果表明: 附子产地相同, 但收割时间不同、制剂工艺各异可使附子及复方参附注射液的主要有效成分附子总生物砷含量同二种注射液中附子的量不成比例。说明附子及其复方制剂应以总生物砷的含量作为质控标准。

2. 附子含有多种生物砷。虽然日本学者

横田正富发现附子有效成分为“去甲乌药砷”, 但含量甚微, 因此以附子总生物砷含量测定作为质控指标。总生物砷的计算以乌头砷为标示量。

3. 因为人参中有某些成分在测定条件下产生有色物质, 能被二氯甲烷提取, 且最大吸收波长也在 400nm, 干扰附子总砷的测定, 因此必须将人参的干扰成分分离除去。或以相应含量的人参注射液做对照。但必须严格遵循以相应含量的人参注射液随行空白的原则。这样测定的回收率为 $97.97 \pm 4.09\%$ 。

4. 作者曾试图以试样不加溴甲酚紫单纯用二氯甲烷提取除去人参干扰成分。实验中发现人参成分的干扰是同染料在实验条件下产生有色物质而发生的。因此酸性染料一比色法是否可以测定人参皂甙的含量有待探讨。

参 考 文 献

- [1] 吴树熙: 中成药研究(6): 32, 1982
- [2] 石山等: 中草药(3): 27, 1982
- [3] 付宏义: 中草药通讯(10), 16, 1979
- [4] 蓝庆荣等: 中成药研究(3): 28, 1983
- [5] 蓝庆荣等: 中成药研究(4): 13, 1983
- [6] 杨华元等: 中成药研究(5): 12, 1984
- [7] 南京药学院主编: 药物分析126页, 人民卫生出版社1980。