

鸦胆子油乳颗粒剂中油酸含量测定及其稳定性考察

沈阳药学院(110015) 孔令辉* 王淑丽 卢 铮 姚崇舜 陈济民
沈阳市沈河区妇幼保健院 黄 菲

摘要 利用GC法对鸦胆子油乳颗粒剂中油酸含量的测定方法进行了研究,并对其稳定性进行了考察。采用石油醚、丙酮两步萃取,可除去乳化剂豆磷脂的干扰,再加氢氧化钾-甲醇液和三氟化硼-乙醚甲醇液,分别皂化和甲酯化。油酸甲酯用正辛烷提取后,以苯甲酸苯酯为内标定量。本法重现性好,定量准确,线性范围0~2.5mg/ml,回收率为100.1%。可作为含鸦胆子油的制剂中油酸的定量方法。

关键词 鸦胆子油 颗粒剂 含量测定

鸦胆子油是苦木科植物鸦胆子 *Brucea javanica* L. Merr. 的成熟果实中所含的植物油。鸦胆子油制剂如乳剂已在临床上治疗癌症,目前发现其对消化道溃疡也有较好的疗效。一般认为鸦胆子油制剂的临床作用与其含有丰富的不饱和脂肪酸特别是油酸有密切的关系^[1],所以对含有鸦胆子油的制剂以测定其中油酸含量作为质量标准之一。利用GC法对鸦胆子油中油酸的含量测定已有报道^[2],但对其制剂中油酸含量的测定方法目前未见报道。在参考现有方法^[3],测定鸦胆子油乳颗粒剂的油酸含量时,发现乳化剂大豆磷脂对测定有干扰,回收率高。若先后用石油醚和丙酮两步萃取,则可除去豆磷脂的干扰;建立了用GC法测定含鸦胆子油制剂的油酸定量方法,并对鸦胆子油乳颗粒剂的稳定性进行了考察。

1 鸦胆子油乳颗粒剂中油酸含量测定

1.1 仪器与药品:日本岛津GC-9A气相色谱仪,岛津C-R3A数据处理机,液相快速混合机。鸦胆子油乳颗粒剂Ⅰ号(批号921001、921002、921003,沈阳东陵制药厂),鸦胆子油乳颗粒剂Ⅱ号(批号:920909,920910,92100沈阳东陵制药厂),油酸对照品(Nacalai Tesque, Inc, Kyoto, Japan),实验用其他试剂均为市售分析纯试剂。

1.2 气相色谱条件:固定液20% DEGS,担体Chromsorb W NAW60-80目,玻璃柱2m× ϕ 3mm,理论塔板数=2.06×10³片,载气(氮气):流速50ml/min,氢气流速45ml/min,空气流速500ml/min;FID检测;柱温180℃,气化室温度250℃,检测器量程范围10³;记录器灵敏度2°,油酸和内标物分离度R=4.76。

1.3 标准曲线的制备

1.3.1 标准溶液的配制:油酸标准品用正辛烷配成2.5mg/ml的溶液,内标物苯甲酸苯酯用正辛烷配成1mg/ml的溶液,置低温冰箱中备用。

1.3.2 标准曲线的绘制:分取2.5mg/ml的油酸标准品溶液1.0,0.8,0.6,0.4,0.2ml至10ml容量瓶中,用N₂吹干,加2ml 0.5mol/l KOH-甲酸液,在60℃恒温水浴中皂化15min,待油珠完全溶解,放冷,加三氟化硼-乙醚液0.5ml,甲醇1.5ml,摇匀,在60℃水浴中甲酯化2min,冰冷,加入1mg/ml苯甲酸苯酯内标液2ml,振摇,加入饱和氯化钠溶液至刻度,将上层液体转移到另一试管中,充N₂,进样1.5ml测定,以油酸与内标物峰面积比值Y(A_i/A_s)对油酸浓度(X_c)进行线性回归,得回归方程:Y=1.4056X-0.237, r=0.9998(n=5)。

* Address: Kong Linghui, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang

1.4 精密度试验：分别取2.5mg/ml油酸对照品 1.0, 0.6, 0.2ml，用N₂吹干，按标准曲线制作项方法操作，测定天内和天间精密度，天间精密度连做4d，结果见表1。精密度结果符合测试要求。

1.5 专一性考察：鸦胆子油、鸦胆子油加内标物色谱峰见图1(f)(g)。可见：鸦胆子油中油酸峰处无干扰，鸦胆子油加内标物后，内标峰处无干扰，且油酸与内标物分离效果好。

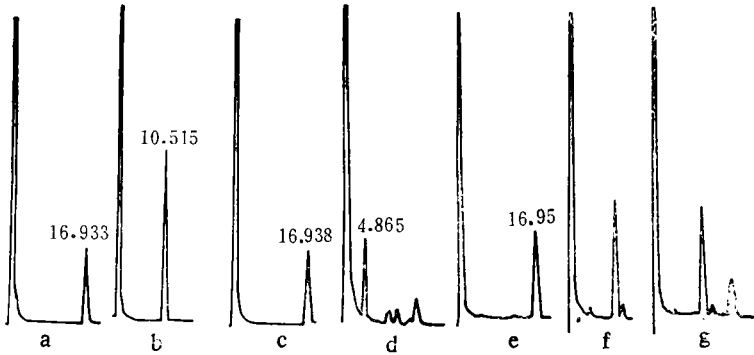


图1 鸦胆子油气相图谱

a- 内标物(苯甲酸苯酯) b-油酸对照品 c-布洛沙姆 d-豆磷脂石油醚萃取 e-豆磷脂用石油醚和丙酮两步萃取
f-鸦胆子油 g-鸦胆子油和内标物

1.6 校正因子测定：按90年版《中国药典》（二部）附录31方法。分别取2.5mg/ml 油酸标准液0.32、0.40、0.48ml，N₂吹干，按以上方法操作，每个浓度连续进样3次，分别求得校正因子，3个浓度校正因子的平均值分别为0.7951±0.0123，0.7819±0.0087,0.7823±0.0709，将以上3个校正因子平均，再求变异系数，结果为 $\bar{f}=0.7864\pm0.0075$ ， $CV=0.955\%$ ，符合《中国药典》规定。

1.7 空白试验

1.7.1 布洛沙姆为乳化剂的空白试验：按处方规定的成分配比，制成不含鸦胆子油的样品，用石油醚提取，提取液用N₂吹干，按标准曲线制作项方法操作。结果见图1(c)。

1.7.2 豆磷脂为乳化剂的空白试验：按处方规定的成分配比，制成不含鸦胆子油的样品（以油酸的标示量为1.0mg为基准：淀粉8mg，豆磷脂0.8mg）加石油醚4ml分3次萃取，每次振荡2min，萃取液用N₂吹干，加丙酮4ml，分3次萃取，每次振荡2min，萃取液用N₂吹干，按标准曲线制作项方法操作，测定结果见图1(e)，表明经提取后豆磷脂不干扰测定。

1.8 回收率试验

1.8.1 样品对照液：精称Ⅱ号鸦胆子油乳颗粒剂8mg（含油酸标示量1.04mg），按豆磷脂

表1 精密度试验

	理论值 (mg/ml)	实测值 (mg/ml)	SD	CV (%)
天内精密度	0.5	0.507	0.012	2.37
n = 3	1.5	1.4995	0.035	0.23
	2.5	2.485	0.027	1.08
天间精密度	0.5	0.496	0.022	2.40
n = 4	1.5	1.484	0.041	2.76
	2.5	2.496	0.020	0.80

为乳化剂的空白试验项方法先后用石油醚和丙酮萃取，萃取液用N₂吹干，按标准曲线制作项方法操作，测定油酸含量(A₁)。

1.8.2 样品中加油酸对照品：精称Ⅱ号鸦胆子油乳颗粒剂8mg3份，分别加入2.5mg/ml油酸对照品0.32、0.40、0.48ml，按上述方法，测定油酸含量(A₂)。计算结果见表2。

表2 回收率测定结果

加入量 (mg)	测得量 A ₂ -A ₁ (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	SD	CV (%)
0.8	0.798	99.75			
1.0	0.989	98.90	99.44	0.469	0.472
1.2	1.196	99.67			

1.9 样品中油酸定量法：取样品10袋，研匀精称适量(约相当于鸦胆子油0.165g)，先后用石油醚和丙酮萃取，按豆磷脂为乳化剂的空白试验项方法操作。

1.10 讨论

1.10.1 空白试验表明，先后用石油醚和丙酮两步萃取法萃取，萃取液在油酸处无干扰，而

单用石油醚一步萃取有干扰。因此两步萃取是可行的。

1.10.2 实验中发现，油酸甲酯化后，加入饱和NaCl溶液使有机层上浮，若上层溶液放置后进样，所测油酸甲酯的含量随时间衰减大，说明油酸甲酯在此环境中不稳定。若将上层液立即转移到另一试管中并充N₂，测定结果衰减不大。如表3所示。

表3 油酸甲酯在不同环境中的稳定性

上层溶液不分离，不充N ₂			上层液分离充N ₂		
	含量(mg/ml)	下降百分率(%)		含量(mg/ml)	下降百分率(%)
甲酯化后立即测定	1.453			1.453	
甲酯化1h后测定	0.990	31.87		1.392	4.20
甲酯化3h后测定	0.881	39.37		1.317	9.36
甲酯化4h后测定	0.816	43.84		1.330	8.47
甲酯化6h后测定	0.710	51.14		1.361	6.33

2 鸦胆子油乳颗粒剂稳定性考察

在确定了可行的定量方法后，则利用GC法对鸦胆子油乳颗粒剂的质量标准进行初步考察，本实验采用留样观察和加速试验法初步考察了制剂的稳定性。

2.1 材料及方法：鸦胆子油乳颗粒剂，沈阳东陵制药厂，批号930415。所用试剂均为化学纯。

2.1.1 光照：将颗粒剂置光箱中，在照度为300勒的条件下进行加速实验，观察样品于0、2、4、6、8、10d后含量变化，结果见表4。

表4 鸦胆子油乳颗粒不同处理条件下含量变化

时间(d)	光照		恒温40℃		恒温60℃		恒温80℃	
	含量(%)	结果(%)	含量(%)	结果(%)	含量(%)	结果(%)	含量(%)	结果(%)
0	0.127	100	0.127	100	0.127	100	0.127	100
2	0.126	99.21	0.126	99.21	0.126	99.21	0.120	94.49
4	0.121	95.28	0.125	98.42	0.121	95.28	0.116	91.34
6	0.119	93.70	0.120	94.48	0.117	92.13	0.113	88.98
8	0.114	89.76	0.115	90.55	0.113	88.97	0.110	86.61
10	0.110	86.61	0.110	86.61	0.108	85.04	0.106	83.46

说明：各种处理结果样品均为乳白色的均匀分散体。结果项是与原始含量比较

2.1.2 将鸦胆子油乳颗粒剂放于恒温40、60、80℃条件下，0~10d，分别取样测含量，并观察外观变化，结果见表4。

2.1.3 将样品于40℃、相对湿度为75%，恒温放置3个月，每月按规定项目检测一次，结果见表5。

通过恒温、恒湿加速试验考察结果，从表中看出颗粒剂中主要成分（油酸）含量应在本品规定的标示量85±15%的范围内，初步认为本品比较稳定，估计在2年保质期内含量变化不会超过标示量范围。

另外，本品在留样3个月后的样品加水冲溶后，分散均匀；在显微镜下观察（150×40倍）油滴仍在5μm以下，10μm以上的粒子不超过5粒，故服用仍具乳剂作用。

2.1.4 取80℃恒温样品层析鉴定：取标准品油酸、鸦胆子油，0、4、8、10d80℃下恒温样品，用石油醚提取，硅胶GC板层析，展开剂：石油醚-醋酸乙酯（85：15），如图2。

表5 鸦胆子油乳颗粒剂于40℃，相对湿度为75%下恒温3个月结果

	外观	溶化性	含量(%)	结果(%) (与原始含量比)
0	奶白色	均匀分散	0.127	100
30	奶白色	均匀分散	0.120	94.49
60	奶白色	均匀分散	0.112	88.18
90	奶白色	均匀分散	0.108	85.03

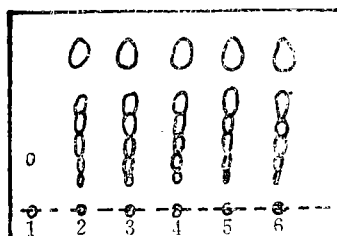


图2 样品层析图

1-油酸 2-鸦胆子油

3、4、5、6分别为0、4、8、10d样品

薄层结果显示，鸦胆子油乳颗粒剂在80℃恒温下10d以内所含成分与鸦胆子油无差别，且依然含有油酸，所以可以肯定同样条件下在40℃、60℃恒温下，样品成分和含量变化不会超过规定范围。

参 考 文 献

- 1 许洪霞，等。辽宁肿瘤防治研究，1983，17：25
- 2 中国科学院林业土壤研究所植物化学组。东北油脂植物及油脂成分测定法。沈阳：辽宁人民出版社，1980，143
- 3 宋永青。食品工业科技，1990，6：53 (1994-01-31收稿)

(上接第67页)

3.1 有关狼毒抗结核活性成分的含量测定至今未报道，本文用反相HPLC法，用甲醇-水-醋酸系统做流动相，对Ⅰ、Ⅱ2种成分做了测定。分析过程在30min左右，方法简便快速灵敏，重现性好，可供该类生药在质量控制及品质评价时参考。

3.2 从测定结果中可知，不同产地的商品药材，上述2种成分的含量有一定的差异；同一产地（燕子矶）的药材，春季（3月）比夏季（6月）含量为高，说明本草文献中关于狼毒春天采收的记载是科学的。

3.3 在所分析的大戟属9种（变种）狼毒中，所测组分只存在于月腺大戟中，可视为本种的特征性成分。

致谢：承江苏植物研究所张涵庆研究员惠赠对照品并给予指导。

(1994-02-19收稿)