

经正交试验及重现性实验可以确定无糖银菊颗粒的氯原酸水提取工艺最佳条件,即以一定量的银花、菊花加入 10 倍量的水,浸泡 0.5 h 后煎煮 3 次,过滤,滤液浓缩,加入 70% 乙醇,放置 24h,过滤,滤液回收乙醇,浓缩成浸膏,可制备质量稳定的无糖银菊颗粒。

参 考 文 献

- 1 苏维辉,等. 双波长法测定银菊冲剂中绿原酸含量. 广东药学,1999,9(1):17

(2004-02-26 收稿)

Study on Optimal Extraction Process of Yinju Sugarless Granules with Orthogonal Design

Su Weihui¹, Chen Mushui², Ren Jiemei²

(1. The First People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510180; 2. The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405)

Abstract Objective: To study the extraction process of chlorogenic acid from Yinju sugarless granules. Methods: The optimal extraction process was selected with orthogonal design. The content of chlorogenic acid in the extract was determined. Results: The content of chlorogenic acid was influenced by frequency of extraction, the quantity of water and the concentration of ethanol. Conclusions: The optimal extraction process is extraction 3 times with 10 times water and with 70% ethanol.

Key words Orthogonal design; Granules; Chlorogenic acid

高效液相色谱法测定牛黄复方栓剂中胆红素的含量

陈 婧 干国平 何再安 刘焱文 史克莉

(湖北中医学院,武汉 430061)

摘要 目的:建立牛黄复方栓剂中胆红素 HPLC 含量测定方法。方法:采用 C₁₈ 反相柱,以二甲基亚砜-乙腈-0.5% 醋酸铵溶液(1:1.4:1)为流动相,456 nm 为检测波长,测定牛黄复方栓剂中胆红素的含量;供试品溶液制备采用二甲基亚砜-乙腈(9:4)混合溶液超声提取。结果:胆红素在 0.107 μg ~ 2.14 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9995$ ($n=5$);回收率为 101.0%, $RSD=0.518%$ ($n=5$)。结论:本法专属性强,简便快速,精密度良好。

关键词 胆红素 含量测定 HPLC 牛黄复方栓剂

牛黄复方栓剂一般由具有清热解毒、利湿通淋之功效的中药研制而成,牛黄多为制剂组方的君药,又系贵重药材,胆红素是牛黄中主要有效成分之一。据文献报道,胆红素具解毒、抗病毒、抗炎等生物活性,选择该成分作为含量测定指标,可反映和控制栓剂的内在质量。关于胆红素的含量测定方法,文献报道有薄层扫描法^[1]、分光光度法^[2]和高效液相法^[3,4]。本试验以牛黄、黄柏、冰片等中药制成栓剂进行研究,采用高效液相色谱法测定本品中胆红素的含量。该方法分离度高,重现性好,阴性对照无干扰,方法可行。

1 仪器与试剂

LC-10AVP 液相色谱仪 (SPD-10AVP, UV-VIS 检测器, CTO-10ASVP 柱温箱), 日本 SHIMADZU 公

司制造; N2000 色谱工作站, 浙江大学提供。2100 型紫外-可见分光光度计, 日本 SHIMADZU 公司制造。Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250mm × 4.6mm, 7 μm), 天津特纳公司生产。胆红素对照品 (批号 0077-9901), 为中国药品生物制品检定所提供。牛黄复方栓剂, 湖北中医学院研制 (批号 030921, 030922, 030923)。水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250mm × 4.6 mm, 7 μm), 柱温为 35℃; 流动相: 二甲基亚砜-乙腈-0.5% 醋酸铵溶液 (1:1.4:1); 检测波长: 456 nm; 灵敏度 0.02 AUFS; 进样量 5 μl。

2.2 供试品溶液的制备 取本品三批各 10 粒, 精密称定, 切细, 取适量, 精密称定。置具塞试管中, 精

密加入二甲基亚砷-乙腈(9:4)混合液 10 ml,超声处理 20 min,立即置冰水浴中冷却 30 min,用 0.2 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。(应避光操作)

2.3 对照品溶液的制备 精密称取胆红素对照品适量,加二甲基亚砷-乙腈(9:4)混合溶液制成每 1 ml 含 90 μg 的溶液,即得。(暗处冷藏)

2.4 线性关系考察 精密称取胆红素对照品 1.07 mg,置于 10 ml 量瓶中,加二甲基亚砷-乙腈(9:4)混合液使溶解,并稀释至刻度,摇匀。精密吸取对照品溶液 1、2、4、10、20 μl,分别进样测定。以胆红素进样量(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线图,得线性回归方程为 $Y = 92538.3 + 2570232.8X, r = 0.9995 (n = 5)$ 。结果表明,胆红素在 0.107 μg ~ 2.14 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 阴性对照试验 取除牛黄外的处方药材,按本品制备工艺和供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液,精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 5 μl,分别进样测定。结果在与对照品色谱峰相同位置上,供试品具有相同保留时间的色谱峰;而阴性对照品在此保留时间处无色谱峰出现,表明阴性对照无干扰。结果见图。

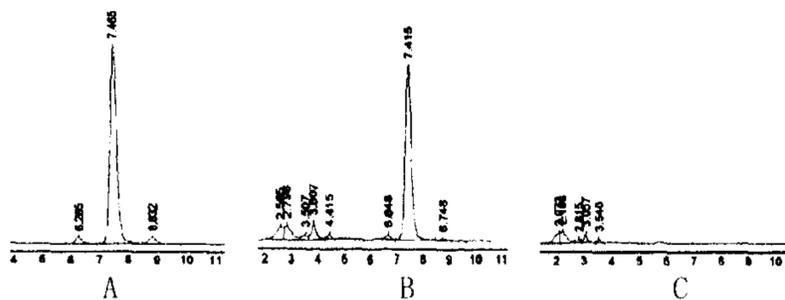


图 高效液相色谱图

A-对照品 B-供试品 C-阴性对照品

2.6 精密度试验 取同一浓度的对照品溶液,重复进样 5 次,每次 5 μl,测定峰面积,峰面积平均值为 1578653, $RSD = 1.07\% (n = 5)$ 。结果表明,仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一浓度的供试品溶液,分为两份,一份避光保存,另一份不避光保存,于 0、1、2、3、4、5h 分别进样测定。结果表明,避光保存的供试品溶液,胆红素峰面积平均值为 1223587, $RSD = 0.848\% (n = 6)$;不避光保存的供试品溶液,胆红素峰面积随保存时间延长而明显下降。表明供试品溶液应避光保存,在此条件下 5 h 内基本稳定。

2.8 重现性试验 取同一批号的供试品 5 份,照样品测定方法处理并测定,结果胆红素平均含量为 2.34 mg/g, $RSD = 2.46\% (n = 5)$ 。表明该方法重现性良好。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的供试品(胆红素含量为 2.34 mg/g)5 份,每份约 0.71 g,精密称定,置具塞试管中,分别加入一定量的胆红素对照品,按“2.2”项下操作,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,结果,胆红素平均加样回收率为 101.0%, $RSD = 0.518\% (n = 5)$,表明该测定方法可靠性较强。

2.10 样品测定 分别精密量取对照品溶液和供试品溶液各 5 μl,注入色谱仪,按上述色谱条件试验,按外标法以峰面积计算含量,结果见表。

表 样品含量测定结果	
批号	胆红素平均含量(mg/粒)
030921	3.65
030922	3.68
030923	3.76

4 讨论

4.1 本试验分别采用索氏提取法、超声提取法进行了比较研究,结果显示,索氏提取法的胆红素含量为 1.39 mg/g,超声提取法的胆红素含量为 2.36 mg/g,超声提取法含量明显高于索氏提取法,表明胆红素对光和热不稳定,由于索氏提取法受热和提取时间长。故其含量下降。

4.2 牛黄中的胆红素以钙盐形式存在,游离胆红素由于分子内氢键的形成而难溶于水,超声时间和冷却时间对本品中胆红素的提取亦有一定影响。经试验比较,超声时间应在 20 min ~ 25 min 之间,冷却时间应为 30 min 较适宜。

4.3 中国药典 2000 年版一部对牛黄中胆红素的含量测定采用的是分光光度法。对牛黄复方制剂若采用分光光度法,其供试品溶液制备难度较大,测定误差也较大;而采用薄层扫描法,则操作较复杂,含量测定不准确。本试验结果表明,采用高效液相色谱法测定含牛黄的中药复方制剂中胆红素的含量,其方法简便快速,准确度较高。

参 考 文 献

- 1 韩咸泰,等. 人工培植牛黄中主要成分的薄层色谱扫描法. 药学学报,1986,21(11):864
- 2 卫生部药品标准. 人工牛黄[WS₃-132(Z-122.98)]
- 3 朱孝云,等. 牛黄中胆红素的 HPLC 测定法. 中成药,1994,16(7):41
- 4 方建国,等. 牛黄息炎痛胶囊中胆红素的含量测定. 药物分析杂志,2002,22(3):198

(2004-03-08 收稿)

Content Analysis of Bilirubin in Niu Huang Compound Suppository by HPLC

Chen Jing, Gan Guoping, He Zai'an, Liu Yanwen, Shi Keli

(Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061)

Abstract Objective: To establish a method of determining content of bilirubin in Niu Huang Compound Suppository by HPLC. Method: C_{18} column was used. The mobile phase was consisted of dimethylsulfoxide; acetonitrile; 0.5% acetic ammonium (1:1.4:1). Detector wavelength was 456 nm. The extraction solution for bilirubin was consisted of dimethylsulfoxide; acetonitrile = 9:4. Results: The linearity was obtained over the range of 0.107 ~ 2.14 μg . The mean recovery was 101.0%, RSD = 0.518% (n = 5). Conclusion: The method was sensitive, simple and accurate.

Key words Bilirubin; Content determination; HPLC; Niu Huang Compound Suppository

不同提取方法对黄芪药材中黄芪甲苷含量测定的影响

潘宏林 张 坦 赵元元

(湖北中医学院, 武汉 430061)

摘要 目的: 比较两种不同提取方法对黄芪药材中黄芪甲苷含量测定的影响。方法: 分别用大孔树脂法和 KOH 回流提取法制备供试品, 点样于硅胶 G 板上, 展开、显色, 再用反射法双波长锯齿扫描 ($\lambda S515\text{nm}$, $\lambda R675\text{nm}$), 以外标两点法回归计算黄芪甲苷含量。结果: 大孔树脂法测得黄芪甲苷平均含量为 0.07971%, 而 KOH 回流提取法测得黄芪甲苷平均含量为 0.1888%; 平均回收率为 97.14%, RSD = 2.32%。结论: KOH 回流提取法处理黄芪药材后, 其中黄芪甲苷含量较大孔树脂法处理的黄芪药材高, 且二者差异明显。

关键词 黄芪 黄芪甲苷 含量测定 皂化 大孔树脂

黄芪药材中含有多种皂苷, 在索氏提取过程中, 使用氢氧化钾甲醇溶液皂化, 经加热回流处理, 极易将其他类型的皂苷乙酰化转换为黄芪甲苷, 故按此法处理时测定的黄芪甲苷含量与药典所规定的大孔吸附树脂法测得的含量之间有一定的差异。现报道如下。

1 仪器与试剂

CS-9000 型双波长飞点薄层扫描仪 (日本岛津); 黄芪甲苷对照品 (中国药品生物制品检定所); 薄层硅胶 G (青岛海洋化工厂); 微量进样器 (上海医用激光仪器厂); 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 2.10 mg, 用甲醇溶解, 并定容至 2 ml, 配制成每 1 ml 含 1.05 mg 对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

2.2.1 大孔树脂提取法: 精密称取黄芪粗粉约 1.5 g, 置索氏提取器中加甲醇 40 ml, 冷浸过夜, 再加甲醇适量, 回流 4 h, 提取液回收甲醇并浓缩至干, 残渣加水 10 ml, 微热使完全溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20 ml, 合并正丁醇提取液, 用氨试液提取 2 次, 每次 20 ml, 弃去氨液, 正丁醇蒸干, 残渣加水 3 ~ 5 ml 使溶解, 放冷, 通过 D101 型大

孔吸附树脂柱 (内径 1.5 cm, 长 12 cm), 以水 50 ml 洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 30 ml 洗脱, 弃去 40% 乙醇洗脱液, 继用 70% 乙醇 50 ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解, 并转移至 2 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品 I, 按相同操作处理配制供试品 II。

2.2.2 KOH 回流提取法: 精密称取黄芪粗粉约 1.5 g, 置索氏提取器中用 2% KOH 甲醇溶液 20 ml, 冷浸过夜, 再加热回流提取至无色, 提取液回收并浓缩至干, 残渣加水 10 ml 使溶解, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 20 ml, 乙醚层用水 5 ml 洗, 合并水液, 用水饱和的氯仿-正丁醇 (4:1) 振摇提取 4 次, 每次 20 ml, 合并氯仿-正丁醇提取液, 用 0.5% KOH 溶液 20 ml 振摇提取 1 次, 碱水液用水饱和的氯仿-正丁醇振摇提取 2 次, 每次 20 ml, 合并氯仿-正丁醇提取液, 蒸干, 用甲醇溶解, 并转移至 2 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品 III, 按相同操作处理配制供试品 IV。

2.3 薄层扫描

2.3.1 点样: 供试品 I、II: 用微量点样器分别吸取供试品 10 μl 和 5 μl , 对照品溶液 2 μl 和 4 μl , 交叉点于同一硅胶 G 薄层板; 供试品 III、IV: 用微量点样器分别吸取供试品 8 μl 和 4 μl , 对照品溶液 2 μl