

牛黄至宝丸的质量标准研究

★ 范艳冰¹ 黄凤婷² (1. 广州医学院羊城医院 广州 510140; 2 广州中医药大学第三附属医院芳村分院 广州 510360)

摘要:目的:为保证药品质量,提高牛黄至宝丸的质量标准。方法:采用薄层色谱法对方中的栀子(栀子苷)、大黄(大黄素)、人工牛黄(去氧胆酸)进行定性鉴别;建立高效液相色谱法测定处方中栀子苷的含量。结果:定性鉴别分离度好,专属性高;栀子苷在 0.51~5.10 μg 范围内呈良好线性关系($r=0.9999$),平均回收率为 97.94%, $RSD=2.07\%$ ($n=6$)。结论:所建立的方法简便,可行,重现性好,可用于牛黄至宝丸的质量控制。

关键词:牛黄至宝丸;质量标准;大黄;人工牛黄;栀子;栀子苷

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

牛黄至宝丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第六册》^[1],由大黄、栀子、人工牛黄等药物组成,具有清热解毒,泻火通便的功效,主要用于胃肠积热引起的痛眩晕,目赤耳鸣,口燥咽干,大便燥结等^[2]。但其原质量标准仅用显微方法进行鉴别,标准要求相对较低,无法全面评价牛黄至宝丸的内在标准。为能更好地控制牛黄至宝丸的质量,本文对其质量进行了系统研究,为完善牛黄至宝丸的质量标准提供了科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AB204-S 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);REPROSTAR II 型紫外检测器、NANOMAT III 型点样器(CAMAG 瑞士公司);戴安高效液相色谱仪(PDA-100 二极管阵列检测器,ASI-100 自动进样器,P680A 四元泵)。

1.2 试剂

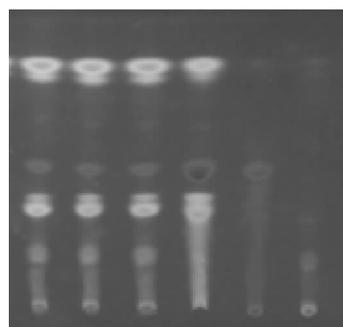
硅胶 G(青岛海洋化工厂);大黄对照药材(902-9404),大黄素(110756-200110),栀子对照药材(0986-9301),栀子苷(110749-200512),去氧胆酸(724-9003),以上均购于中国药品生物制品检定所;人工牛黄对照药材;牛黄至宝丸;阴性对照品(按处方中药味的比例和制备工艺分别制成的不含大黄、不含栀子、不含人工牛黄的阴性对照品)。

2 定性分析

2.1 大黄的鉴别

取本品 10 粒,加乙酸乙酯 20 mL,超声提取 20 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醚 20 mL 使溶解,乙

醚液加 5% 的碳酸钠萃取 2 次,每次 15 mL,合并碱液,加稀盐酸调 pH 至 3,再加乙醚萃取 3 次,每次 15 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取大黄对照药材 0.4 g,缺大黄的阴性样品 2 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照溶液。再取大黄素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录 VIB)试验,吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各 3 μL ,对照药材溶液和对照品溶液各 2 μL ,分别点于同一硅胶 G 板上,以石油醚(30 $^{\circ}\text{C}$ ~60 $^{\circ}\text{C}$)-甲酸乙酯-甲酸(25:10:1)上层液为展开剂,在冰箱中展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,见图 1。



1 2 3 4 5 6

1 大黄紫外光(365nm)薄层图谱

1,2,3 牛黄至宝丸供试品 4 大黄对照药材 5 大黄素对照品 6 大黄阴性对照

2.2 栀子的鉴别 取本品 10 粒,研细,加 75% 的乙醇 20 mL,加热回流 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,石油醚(60℃~90℃)洗涤 2 次,每次 15 mL,水层用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇液提取液,蒸干,残渣加无水乙醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取栀子对照药材 2 g、缺栀子的阴性样品 2 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照溶液。再取栀子苷对照品加无水乙醇制成 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录 VIB)试验,吸取上述四种溶液各 2 μL,分别点于同一硅胶 G 板上,以乙酸乙酯-丙酮-水(15:10:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 50% 硫酸乙醇溶液,105℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,在对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,见图 2。

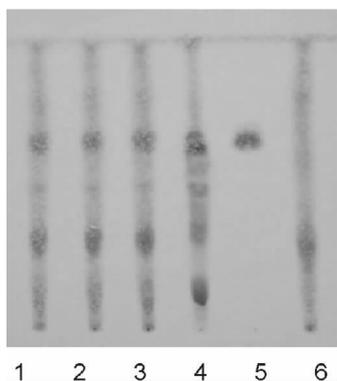


图 2 栀子薄层色谱图
1、2、3 牛黄至宝丸供试品
4 栀子对照药材
5 栀子苷对照品
6 栀子阴性对照

2.3 人工牛黄的鉴别

取本品 10 粒,研细,加三氯甲烷 20 mL,超声提取 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取人工牛黄对照药材 0.4 g、缺人工牛黄的阴性对照样品 2 g,同法制成对照药材溶液和阴性对照溶液。再取去氧胆酸对照品,加无水乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版一部附录 VIB)试验,吸取上述四种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 板上,以正己烷-乙酸乙酯-乙酸-甲醇(10:5:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105℃ 加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下观察,供试品色谱中,在与对照药材

色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,见图 3。

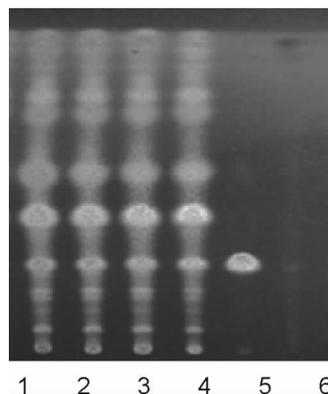


图 3 牛黄紫外光(365nm)薄层色谱图
1、2、3 牛黄至宝丸供试品
4 牛黄对照药材
5 去氧胆酸对照品
6 牛黄阴性对照

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(35:85);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:238 nm;理论塔板数:以栀子苷计算,应不低于 3 000。

3.2 溶液的配制

3.2.1 对照品的制备 精密称取栀子苷对照品约 25 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 取本品约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,精密称重,超声处理 30 分钟,放冷,精密称重,加甲醇补足失重,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.2.3 阴性对照溶液制备 按处方量比例去除栀子外的处方药材,按制备工艺制备阴性样品,按供试品溶液的制备方法得阴性对照溶液。

3.3 线性关系考察

取对照品溶液,分别进样量 1、2、4、6、8、10 μL,按拟定的色谱条件测定,得栀子苷峰面积,以峰面积 Y(mAU)为纵坐标,进样量 X(μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程:Y=34.563 4X-2.098 2,r=0.999 9;结果表明,栀子苷在进样量 0.49~4.90 μg 范围内呈良好线性关系。

3.4 精密度实验

取栀子苷对照品溶液,依法测定,进样量 10 μL,连续测定 6 次,计算栀子苷峰面积标准偏差;结

果表明方法精密度良好。结果见下表 1。

表 1 精密度试验结果

测定次数	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
峰面积	64.2381	64.2288	64.2128	64.1911	64.3004	64.3371	0.1089

3.5 重复性实验

取同一批牛黄至宝丸样品,按供试品溶液制备方法,平行操作 6 份,依法测定,进样量 10 μ L,计算结果,RSD 为 0.3169%。结果表明,方法重复性良好,结果见表 2。

表 2 重复性试验结果

序号	1	2	3	4	5	6	平均	RSD(%)
含量(mg/g)	4.4952	4.5251	4.5041	4.5011	4.5295	4.4751	4.4852	0.3169

3.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,于 12 小时内每隔 0、2、4、6、9、12 小时进样检测,依法测定,进样量 10 μ L,结果表明,栀子苷峰面积 RSD 为 1.132%,样品在 12 小时内稳定性良好。结果见表 3。

表 3 稳定性试验结果

时间(h)	0	2	4	6	9	12	RSD(%)
峰面积	59.3485	59.1357	60.0951	59.8757	59.2223	60.1431	0.9494

3.7 回收率实验

取重复性实验项下的供试品 6 份,每份 4.0 g,精密称定,按当前取样含量约 1:1 分别精密加入栀子苷对照品,按含量测定方法测定,计算栀子苷的回收率。结果见表 4,平均回收率为 99.97%,RSD = 0.2027%,结果表明方法回收率良好。

表 4 回收率实验结果

序号	原有量(mg)	加入量(mg)	测定量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.9362	4.0480	3.9312	100.11		
2	3.9463	4.0480	4.0194	98.85		
3	3.9318	4.0480	3.8695	100.01		
4	3.9256	4.0480	4.0978	100.35	99.97	0.2027
5	3.9480	4.0480	3.9121	100.16		
6	3.9469	4.0480	3.9568	99.83		

3.8 专属性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μ L,按所定色谱条件进样并记录色谱图,结果显示,阴性样品溶液,对测定结果无干扰,栀子苷与其他杂峰之间达到基线分离,分离度 $R > 1.5$;栀子苷峰的保留时间约为 7.4 分钟;理论板数以栀子苷峰计算,应不低于 3 000。

3.9 样品的测定

精密称取不同批次的牛黄至宝丸样品,按供试品溶液制备方法制备成供试品溶液,进样量 10 μ L,依法测定,根据所测 10 批样品的实验结果,考虑到大生产及原料波动等因素,暂定牛黄至宝丸的含量限度为:本品内容物每克含栀子苷($C_{17}H_{24}O_{11}$),不得少于 1.6 mg。结果见表 4。

表 4 样品中栀子苷含量测定结果

批号	栀子苷含量(mg/g)
070801	4.5452
070802	3.7261
070803	3.7861
070804	4.1555
070805	1.7345
070806	1.8886
070807	4.2864
070808	3.9973
070809	5.6934
070810	2.6523

4 讨论

牛黄至宝丸原标准中仅采用显微鉴别,而本文标准提高中的大黄的鉴别参照《中国药典》(2005 版)一部中的方法,增加了大黄素对照品鉴别项,并增加了栀子、人工牛黄的薄层鉴别,使鉴别结果更加可靠采用 TLCI 法对制剂中的大黄、栀子、人工牛黄进行鉴别,斑点清晰,阴性无干扰,所选展开剂具有分离效果好,简便,快速等特点。

在含量测定的实验中,本文曾对供试品溶液制备的提取方法、提取溶剂、提取时间、提取溶剂量进行筛选,最后确定用 20mL 的甲醇,超声提取 30 分钟,牛黄至宝丸栀子苷的得率相对较高。

本文中的薄层鉴别及含量测定,是在参考《中国药典》(2005 版)及其他相关文献的基础上,并经实验进行筛选,最终确定为牛黄至宝丸质量标准研究的方法,其方法准备可靠,这对提高牛黄至宝丸的质量标准,保证临床用药安全,保障广大人民群众的生命健康有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会编. 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂第六册,1998;
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005,第一版;

(收稿日期:2008-11-24 责任编辑:周茂福)

欢 迎 投 稿 ! 欢 迎 订 阅 !