

【化学测定方法】

局方至宝散中牛黄质量控制方法的研究

夏晶¹, 王伟毅¹, 沙祎炜², 王柯¹, 季申^{1*}

(1. 上海市食品药品检验所, 上海 201203; 2. 上海市崇明食品药品检验所, 上海 202150)

【摘要】 目的: 建立控制局方至宝散中牛黄质量的分析方法, 用于制剂中投料所用牛黄的品种及质量监控。方法: 采用薄层检查法检测猪去氧胆酸成分; 采用薄层扫描法对局方至宝散中牛黄的胆酸含量进行测定, 展开剂为环己烷-乙酸乙酯-36%乙酸-甲醇(20:25:2:3)上层溶液, 展开2次; 薄层板为硅胶G板, 显色剂为10%硫酸乙醇溶液(V/V), 105℃加热至斑点显色清晰; 检测波长为460 nm; 采用高效液相色谱法对局方至宝散中牛黄的胆红素含量进行测定, 色谱柱为Kromasil-C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm)柱, 流动相为乙腈-1%冰乙酸溶液(95:5, V/V), 流速为1.0 ml/min, 检测波长为450 nm。结果: 薄层检查法中, 猪去氧胆酸的最低检出量为0.04 μg。薄层扫描法中, 胆酸线性范围为25.1 mg/ml~502.0 mg/ml, 相关系数为0.999, 检出限为0.06 μg; 平均加标回收率为100.8%, RSD为1.64%。高效液相色谱法中, 胆红素方法线性范围为1.22 mg/ml~61.0 mg/ml, 相关系数为0.9999, 检出限为0.002 μg; 平均加标回收率为99.0%, RSD为1.62%。结论: 该法操作简便, 结果准确可靠, 应用性较广。

【关键词】 牛黄; 局方至宝散; 薄层检查法; 薄层扫描法; 高效液相色谱法

【中图分类号】 R284

【文献标识码】 A

【文章编号】 1004-8685(2011)08-1872-04

Quality control methods to calculus bovis in Jufang Zhibao powder

XIA Jing¹, WANG Wei-Yi¹, SHA Yi-Wei², WANG Ke¹, JI Shen^{1*}

(1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Chongming Institute for Food and Drug Control, Shanghai 202150, China)

【Abstract】 **Objective:** To establish a set of analytical methods for controlling the quality of Calculus Bovis in the Jufang Zhibao Powder. The methods can be used to control the variety and quality of Calculus Bezoar materials used in Jufang Zhibao Powder.

Methods: Thin-layer chromatography (TLC) was used to determine hyodeoxycholic acid and Thin-layer chromatography scanning (TLCS) method was used to determine cholic acid, the developer was the mixture of cyclohexane-ethyl acetate-36% acetic acid-methanol (20:25:2:3) upper solution. The TLC plate was silica gel G plate and the colour developing reagent was 10% solution of sulfuric acid in ethanol (V/V). To heat at 105℃ to develop clearly, the detection wavelength was 460 nm. High performance liquid chromatography was used to determine bilirubin, Kromasil-C18 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as separation column with mobile phase of acetonitrile-1% glacial acetic acid solution (95:5, V/V) and flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 450 nm. **Results:** The minimum detectable amount of hyodeoxycholic was 0.04 μg by TLC. In the system of TLCS, the linear range is 25.1 mg/ml~502.0 mg/ml with the correlation coefficient of 0.999 and the detection limit of 0.06 μg. The average recovery was 100.8% with RSD of 1.64%. For HPLC, the linear range of 1.22 mg/ml~61.0 mg/ml with the correlation coefficient of 0.9999 and the detection limit of 0.002 μg was obtained. The average recovery was 99.0% with RSD of 1.62%. **Conclusion:** The methods are simple and accurate with wide application.

【Key words】 Calculus Bovis; Jufang Zhibao Powder; Thin-layer chromatography; TLCS; High performance liquid chromatography

“局方至宝散”由水牛角浓缩粉、牛黄等9味药味组成, 具有清热解毒、开窍镇惊的功效^[1]。其中牛黄为君药, 国家食品药品监督管理局明确规定其中的牛黄不得以人工牛黄替代, 必须使用天然牛黄、培植牛黄和体外培育牛黄^[2]。由于没有

相应的标准对制剂中牛黄质量进行控制, 难以控制其内在质量。因此, 建立一套有效、简单、快速的牛黄质量控制方法非常必要。

本研究建立了猪去氧胆酸的薄层检查方法, 能有效区分人工牛黄和其他牛黄; 为区分牛黄的质量, 建立了牛黄中胆酸和胆红素专属性强含量测定方法。利用游离胆红素与结合胆红素、共价胆红素的性质差异, 采用一定浓度的乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶液, 有效区分了人工牛黄与天然牛黄、培植牛黄和体外培育牛黄, 从分析手段上可区分和控制牛黄

【基金项目】 本文系重大新药创制项目(2009ZX09308-004)

【作者简介】 夏晶(1972-), 女, 在职研究生, 副主任药师, 主要从事天然药物、食品理化检验工作。

* 通讯联系人 E-mail: jishen2008@gmail.com

品种,保证制剂的质量。该方法也对多个含牛黄中成药进行验证,证明具有通用性较强的特点,应用价值大。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

CAMAG SCANNER 3 型薄层扫描仪; Agilent 1100 高效液相色谱仪; CAMAG 全自动点样仪; HAMILTON 微量注射器(100 μ l); MERCK 高效硅胶预制薄层板; 薄层色谱展开缸(双槽 200 mm $\times$ 100 mm, 上海信谊仪器厂); BRANSON B5500S-MT 超声波清洗器[必能信超声(上海)有限公司]; 电加热板(意大利 FALC 公司,最高温度 600 $^{\circ}$ C)。

胆红素、胆酸、猪去氧胆酸对照品(中国药品生物制品检定所); 乙腈(色谱纯,德国 MERCK 公司); 二氯甲烷、乙醇、甲醇、环己烷、乙酸乙酯、36% 乙酸、硫酸、磷酸盐和 EDTA-2Na[分析纯,中国医药(集团)上海化学试剂公司]。

1.2 色谱条件

1.2.1 猪去氧胆酸检查和胆酸含量的薄层条件 展开剂为环己烷-乙酸乙酯-36% 乙酸-甲醇(20:25:2:3)的上层溶液,展开 2 次; MERCK 高效硅胶预制薄层板; 10% 硫酸乙醇溶液(V/V),105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰; 检测波长为 460 nm。

1.2.2 胆红素含量的液相条件 Kromasil-C18 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-1% 冰乙酸(95:5, V/V); 流速为 1.0 ml/min; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 进样量为 5 μ l; 检测波长为 450 nm。

1.3 样品处理

1.3.1 猪去氧胆酸检查和胆酸含量 准确称取本品粉末 0.1 g,置索氏提取器中,加甲醇 80 ml,加热回流提取 7 h,提取液蒸干,残渣加乙醇使溶解,转移至 10 ml 量瓶中,用乙醇稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液。

1.3.2 胆红素含量 准确称取本品粉末 50 mg,置 100 ml 棕色量瓶中,加入 0.2 mol/L EDTA-2Na 溶液(配制时应适当加热使完全溶解,放冷后使用,临用新配) 2 ml,混匀,精密加入水饱和二氯甲烷 50 ml,称定重量,冰浴超声处理(功率 180 W,频率 42 kHz) 20 min,再称定重量,用二氯甲烷补足减失的重量,摇匀,离心,取二氯甲烷液用微孔滤膜(0.22 μ m)滤过,取续滤液。

2 结果与讨论

2.1 薄层条件的确定

参考文献^[3],分别考察了 8 种展开剂。最终采用环己烷-乙酸乙酯-36% 乙酸-甲醇(20:25:2:3)的上层溶液,展开 2 次。选用 10% 硫酸乙醇溶液(V/V)显色,所得色谱图中猪去氧胆酸斑点的位置适中,胆酸斑点集中,颜色为亮黄色,与其他色谱斑点的颜色区别较大,受干扰小,宜于薄层扫描。胆酸斑点在 460 nm 波长处有最大吸收。故检测波长定为 460 nm。

2.2 薄层前处理方法的选择

采用了超声处理(180 W, 42 kHz) 1 h、水浴加热回流提取 1 h、索氏回流提取至无色等三种方法,提取效果是索氏 > 超声 > 回流; 分别索氏提取了 3 h、4 h、5 h、6 h、7 h、8 h,结果索氏提取 7 h 后,局方至宝散中胆酸可完全被提取,考察了甲醇、乙醇和无水乙醇等三种溶剂,结果显示提取溶剂为甲醇和乙醇时,

提取效果较好,其中甲醇的沸点低,更易回流。最终选择甲醇索氏提取 7 h。

2.3 液相流动相的选择

2.3.1 文献流动相 参考有关文献资料^[4-6],对流动相①甲醇-四氢呋喃-0.5% 乙酸溶液(80:10:10, V/V); ②甲醇-三氯甲烷-1% 磷酸溶液(84:9:7, V/V); ③二甲基亚砆-乙腈-0.5% 乙酸铵溶液(1:1.4:1, V/V); ④三氯甲烷-甲醇-N,N-二甲基甲酰胺(54:40:6, V/V); ⑤二甲基亚砆-乙腈-0.5 mol/L 乙酸铵溶液(用冰乙酸调节 pH 值为 5.3)(6:6:7, V/V); ⑥三氯甲烷-甲醇(90:10, V/V)进行了考察。结果发现胆红素色谱峰在流动相①~⑤中两侧分别出现两个小色谱峰,并随时间延长不断增大; 流动相⑥因含 90% 三氯甲烷,挥发性较强,流动相比例易受环境温度影响造成轻微变化,胆红素色谱峰保留时间经常变化,不利于定量分析。

2.3.2 本法流动相 经实验,流动相的酸性或极性过强是造成胆红素色谱峰分解的主要原因,故对酸性较小的流动相⑦甲醇-乙腈-1% 冰乙酸溶液(88:10:2, V/V); ⑧乙腈-1% 冰乙酸溶液(87:13, V/V); ⑨乙腈-1% 冰乙酸溶液(95:5, V/V)进行了考察。结果胆红素色谱峰在流动相⑦中仍分解,但在流动相⑧和⑨中 12 h 内保持稳定。综合考虑保留时间、理论板数等因素,最后选用了流动相⑨。

2.4 液相提取溶剂的选择

2.4.1 文献中提取溶剂 参考有关文献资料^[4-6],对提取溶剂进行了考察,具体为①三氯甲烷-甲醇-盐酸-水(90:10:0.015:0.3, V/V); ②二甲基亚砆-乙腈(9:4, V/V); ③二甲基亚砆-乙腈(7:3, V/V); ④三氯甲烷-冰乙酸(4:1, V/V); ⑤三氯甲烷-甲醇-水(90:10:0.3, V/V); ⑥三氯甲烷-甲醇(90:10, V/V); ⑦三氯甲烷-甲醇(50:50, V/V); ⑧三氯甲烷; ⑨二氯甲烷。

结果发现使用溶剂①~④,胆红素对照品色谱峰均为两个色谱峰,其中一色谱峰较小,但随着时间的推移,峰面积逐渐增大,疑胆红素对照品在酸性或极性条件下不断分解; 供试品色谱中胆红素色谱峰分解成多个峰。说明溶剂①~④不适合胆红素的提取。

在溶剂⑤~⑨中,胆红素对照品色谱峰均为单个色谱峰,从环保与简便的角度,选择二氯甲烷作为对照品的溶剂。但样品采用溶剂⑤~⑨进行提取,胆红素色谱峰的面积远小于采用酸性溶剂提取得到的峰面积,说明这 5 种溶剂未能有效提取出样品中的胆红素。

2.4.2 本法使用的提取溶剂 通过研究文献,发现人工牛黄一般采用非酸性溶剂提取,而天然牛黄、培植牛黄和体外培育牛黄均采用酸性或极性溶剂提取,主要由于人工牛黄中只有游离胆红素,而天然牛黄、培植牛黄和体外培育牛黄中除含有少量游离胆红素外,大部分为结合胆红素和共价胆红素^[7,8],游离胆红素易溶于三氯甲烷等有机溶剂,故可直接用三氯甲烷提取; 结合胆红素和共价胆红素则需先破坏结合键和共价键,使胆红素游离出来,再用有剂溶剂提取。对局方至宝散或其他制剂,其他成分的存在会加速胆红素的分解,酸性溶剂不适合。

对文献所测定制剂品种进行分析,发现一般所含药味较少,如西黄胶囊,除牛黄外只含麝香、乳香和没药 3 味,另有些品种为中西复方制剂,除牛黄外其余药味大多为西药,对胆红

素测定干扰较小。而局方至宝散中含有 12.1% 的朱砂和 12.1% 的雄黄,根据文献^[9],胆红素的氢键结构,极易和金属离子形成配合物,使胆红素吸收波长发生改变,液相色谱行为产生变化,造成胆红素含量的不稳定,从而影响含量测定。根据这种情况,考虑加入稳定剂消除金属离子的干扰。

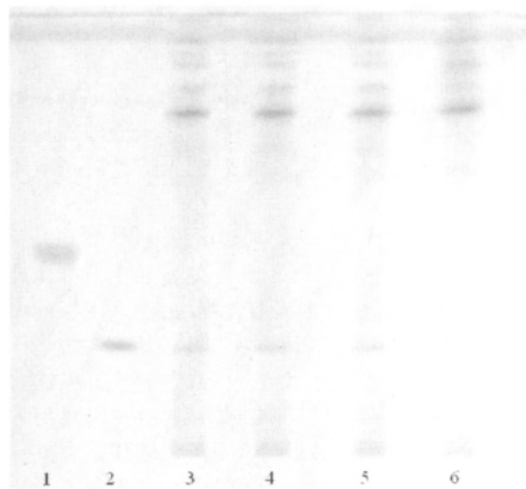
2.4.3 胆红素测定方法中稳定剂的选择 首选了对金属离子有较好络合作用的乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)和乙二胺四乙酸(EDTA)作为稳定剂,有文献^[10]提到少许 EDTA 的加入有助于抑制胆红素的氧化,考虑到固体发挥的作用有限,将稳定剂配成水溶液,EDTA 和 EDTA-2Na 的浓度均为 0.2 mol/L,同时对水饱和和二氯甲烷、水饱和和三氯甲烷和水饱和乙酸乙酯等 3 种提取溶剂进行了考察。

分别采用局方至宝散和体外培育牛黄进行试验,结果加入稳定剂溶液后,各提取溶剂的提取效率均较未使用稳定剂提高了数十倍,其中水饱和和二氯甲烷的提取效率要优于水饱和和三氯甲烷,水饱和和乙酸乙酯的提取效率相对较差。采用 EDTA-2Na 溶液的效果要优于 EDTA 溶液,可能与 EDTA-2Na 更易和样品中金属离子络合有关。

2.4.4 胆红素提取效率比较 分别采用局方至宝散和体外培育牛黄对二氯甲烷-EDTA-2Na 系统、酸-二氯甲烷系统和酸-二氯甲烷-EDTA-2Na 系统进行考察。其中二氯甲烷均为水饱和和二氯甲烷;EDTA-2Na 溶液浓度为 0.2 mol/L;酸分别选用盐酸、磷酸和冰乙酸,使用量均为 0.24%。结果表明,在加入足够 EDTA-2Na 溶液的条件下,对于局方至宝散,二氯甲烷-EDTA-2Na 系统与酸-二氯甲烷-EDTA-2Na 系统的提取效率相当,均远高于酸-二氯甲烷系统;对于体外培育牛黄,三个系统的提取效率基本相当。说明 EDTA-2Na 对于胆红素含量的稳定,有着至关重要的作用。因此稳定剂选用 EDTA-2Na 溶液,提取溶剂选用水饱和和二氯甲烷。

2.5 方法验证实验

2.5.1 专属性实验 图 1 是猪去氧胆酸检查和胆酸含量测定的薄层色谱图。3 批样品均未检出猪去氧胆酸。阴性样品(不含牛黄)在胆酸斑点相应处无干扰。

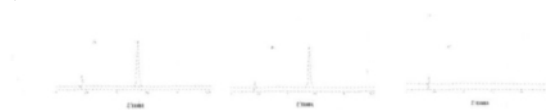


1. 猪去氧胆酸;2. 胆酸;3~5. 样品 1~3;6. 牛黄阴性对照

图 1 局方至宝散的薄层色谱图

图 2 是胆红素含量测定的液相色谱图。该色谱条件下,胆红素为单一色谱峰。阴性样品在胆红素质谱峰相应处无干

扰。



A. 胆红素对照品;B. 样品;C. 牛黄阴性对照;1. 胆红素

图 2 局方至宝散的液相色谱图

2.5.2 精密度、稳定性和准确度

2.5.2.1 胆酸含量 同一块薄层板上,高低浓度胆酸对照品和供试品峰面积的 RSD 分别为 1.4%、0.5% 和 0.9%。表明板内精密度良好;不同薄层板上,供试品中胆酸含量的 RSD 为 1.3%。表明板间精密度良好。

分别于 0 min、20 min、40 min、60 min、80 min、100 min 和 120 min 测定胆酸含量,RSD 为 1.4%。表明供试品溶液在 0 min~120 min 基本稳定。

按高、中、低三个浓度处理样品 9 份,每 3 份加入相当于样品量 80%、100% 和 120% 的胆酸对照品,平均回收率为 100.8%,RSD 为 1.64%。表明准确度良好。

2.5.2.2 胆红素含量 重复进样 6 次,胆红素对照品和供试品峰面积的 RSD 分别为 0.18% 和 0.24%。表明精密度良好。

分别在 0 h~24 h 内每隔一段时间进样分析,结果胆红素对照品和供试品峰面积的 RSD 分别为 0.54% 和 4.36% ($n=20$)。表明稳定性良好。

按高、中、低三个浓度处理样品 9 份,每 3 份加入相当于样品量 80%、100% 和 120% 的胆红素对照品,平均回收率为 99.0%,RSD 为 1.62%。表明准确度良好。

2.5.3 线性范围和检出限 分别精确量取不同浓度的胆酸对照品溶液各 5 μ l,点于同一薄层板上,以点样量 $X(\mu\text{g})$ 对吸光度积分值 Y 进行线性回归。分别精确量取不同浓度的胆红素对照品溶液各 5 μ l,按所述液相色谱条件测定,以进样量 $X'(\text{ng})$ 对峰面积积分值 Y' 进行线性回归。胆酸和胆红素均以信噪比为 3 确定方法的检出限。测定结果见表 1。

表 1 胆酸和胆红素的回归方程、相关系数、线性范围和检出限

成分	回归方程	相关系数 (r)	线性范围 (μg)	检出限 (μg)
胆酸	$Y = 4648.3X + 1978.7$	0.9991	0.1255 ~ 2.51	0.06
胆红素	$Y' = 5.0486X' + 4.6267$	0.9999	0.0061 ~ 0.305	0.002

2.5.4 猪去氧胆酸最低检出量 用不同浓度的猪去氧胆酸对照品溶液,在同一薄层板上进行试验,结果猪去氧胆酸点样量为 0.04 μg 时,日光下肉眼无法辨别,但紫外光灯(365 nm)下仍可检视,说明此方法中猪去氧胆酸的最低检出量为 0.04 μg 。

2.6 小结

2.6.1 研究意义 本实验通过建立一套完整的分析方法,有效区分了人工牛黄与天然牛黄、培植牛黄和体外培育牛黄,可防止将本品中牛黄用人工牛黄替代或掺杂部分人工牛黄的现象。

2.6.2 EDTA-2Na 溶液的作用分析 在胆红素含量测定方法中,首次引入了 EDTA-2Na 溶液,具有四方面作用,①络合

(下转第 1877 页)

求得 EMZ 的基质效应。结果 EMZ 溶液低、中、高三质量浓度的介质效应分别为 109.2%、108.9%、110.8% ,表明本实验条件可以有效地避免血浆介质效应。

3 临床应用

患者,男,54 岁,患酒精性肝硬化 4 年,因出现皮肤、眼白发黄,伴尿色加深如浓茶,腹围进行性增大症状来我院就诊,诊断为酒精性肝硬化失代偿期、胃溃疡。住院治疗,给予保肝治疗和埃索美拉唑片(耐信片)抗溃疡。因考虑到病人肝功能严重不全,故将埃索美拉唑片剂量减半,给予 20 mg qd。在病人首次服药的 2 h 后,取血按此试验方法测得埃索美拉唑的质量浓度为 $986 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ (见图 4) ,与健康人服用埃索美拉唑片 40 mg 2 h 后的浓度($919 \pm 53 \pm 218 \cdot 44$) $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ [5] 接近,与我们预测的一致。

4 讨论

目前,文献报导的埃索美拉唑血药浓度的检测基本上是 HPLC 法。本实验采用 HPLC-MS 法能检测到极微量的血浆浓度。相对于 HPLC 本法灵敏度高,专属性强。

本试验还曾试了 APCI 与 ESI 离子源,结果埃索美拉唑在 ESI 离子源情况下灵敏度比 APC I 源要高。定量分析选择了 SIM 模式,因发现 SIM 模式的峰比 MRM 模式的要高很多,可能质谱仪类型有关。

曾选择甲醇-水,甲醇-0.1% 甲酸,乙腈-水,乙腈-0.1% 甲酸做流动相,结果发现乙腈效果比较甲醇好,压力小、稳定、质谱响应值更高,故选用乙腈作为有机相;流动相相

加入 0.1% 甲酸,有促进待测物离子化效果,故选择了乙腈-0.1% 甲酸做流动相。相对等梯度,采用梯度洗脱可以提高分离度,改善峰形,减少基质效应,提高检测灵敏度,且在 LC-MS 中不会引起基线漂移。

埃索美拉唑是奥美拉唑的左旋体,性质不稳定,在酸、高温、光照条件下容易分解,因此血浆蛋白的预处理比较困难。本实验曾采用液液萃取法处理,但是耗时,分析成本高,而且效果不理想。比较了用甲醇、乙腈和 10% 三氯乙酸沉淀血浆蛋白,发现乙腈沉淀血浆蛋白简单、迅速,萃取回收率高。由于埃索美拉唑是左旋体,而且见光易分解,所以所有操作均避光进行。

【参考文献】

- [1] Ia Hultman, Helene Stenhoff, Mathias Liljeblad. Determination of esomeprazole and its two main metabolites in human, rat and dog plasma by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2007, 848: 317 - 322.
- [2] 胡晓,唐晓海. RP-HPLC 法测定 S-奥美拉唑钠及其有关物质的含量 [J]. 中国药房, 2009, 20(22): 1744 - 1746.
- [3] 楼永军,王峰. HPLC-MS 测定人血浆中奥美拉唑浓度及药动学 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(4): 292 - 294.
- [4] 田冀媛. HPLC-MS 法测定人血浆奥美拉唑的水平 [J]. 南华大学学报·医学版, 2008, 36(3): 354 - 357.
- [5] 陈刚. 2 种埃索美拉唑制剂的人体生物等效性研究 [J]. 中国药房, 2009, 20(2): 116 - 118.

(收稿日期: 2011-03-31)

(上接第 1874 页)

作用,能有效与金属离子络合,防止金属离子与胆红素结合而破坏胆红素;②提取作用,能破坏结合胆红素和共价胆红素的结合键和共价键,使胆红素游离出来,便于提取;③稳定作用,与溶剂体系中其他氧化物结合,防止胆红素被氧化;④系统保护作用,经测定 0.2 mol/L EDTA-2Na 溶液的 pH 值范围在 4~5 之间,呈弱酸性,可克服胆红素氢键与其他物质结合的力,但不足以使胆红素氢键发生变化,保护胆红素所处的整个系统稳定,使胆红素稳定。

2.6.3 研究成果

2.6.3.1 测定含矿物药制剂中牛黄的胆红素含量 国家标准中约有 500 种中成药中含有牛黄,其中国家食品药品监督管理局明确规定不得使用人工牛黄的品种共有 38 种,含牛黄的中成药品种大部分含有雄黄朱砂等矿物药,本方法有效屏蔽了金属离子,能准确测定胆红素的含量。

2.6.3.2 区别制剂中牛黄的品种 通过猪去氧胆酸检查项和胆红素含量中加入 EDTA-2Na 溶液前后胆红素峰面积的变化,判断牛黄品种。

2.6.3.3 区别制剂中牛黄的质量 通过测定游离胆红素的量,计算出游离胆红素占总胆红素量的比例,结合胆酸含量高低,可判断出制剂中牛黄的质量及是否添加了游离胆红素或人工牛黄。

2.6.3.4 方法的应用性广 该方法经对多个含牛黄制剂进行试验,结果猪去氧胆酸薄层检查法、胆酸薄层扫描法和胆红素

含量测定方法均可通用,区别只在取样量及试剂用量上。本研究使制剂中牛黄的质量控制不再停留在形式上,从分析技术上得到了有效解决,应用前景广泛。

【参考文献】

- [1] 中华人民共和国药典(一部) [S]. 2005.
- [2] 国食药监注[2004]21 号. 国家食品药品监督管理局.
- [3] 刘训红,王玉玺,房克慧,等. 中药材薄层色谱鉴别 [S]. 1990.
- [4] 张艳. 用高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺片中胆红素的含量 [J]. 中外健康文摘, 2007, 4(7): 120 - 121.
- [5] 张鹏,董海燕,刘银丽. HPLC 法测定西黄胶囊中胆红素的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(5): 363 - 366.
- [6] 王宜祥,傅剑飞. HPLC 法测定小儿速效感冒灵中胆红素含量 [J]. 现代应用药学, 1996, 13(6): 59 - 61.
- [7] 丁岗,盛龙生,李明慧,等. 体外培育牛黄与天然牛黄指纹图谱的比较研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 309 - 312.
- [8] 杨芳,郑文杰,白燕. 胆红素分析研究进展 [J]. 中成药, 2004, 26(5): 416 - 419.
- [9] 郑文杰,杨芳,曾鑫华. 胆红素的结构、发光和配位化学 [J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2000, 21(5): 57 - 63.
- [10] 李发美,宋敏,周密,等. 高效液相色谱法测定安宫牛黄丸中胆红素含量 [J]. 沈阳药学院学报, 1990, 7(2): 83 - 87.

(收稿日期: 2011-04-20)