

牛黄清胃丸质量标准研究(二)

宋宝鹏 许世伟 李延雪(黑龙江省鸡西市药品检验所, 鸡西 158100)

摘要 目的: 建立牛黄清胃丸的质量标准。方法: 用 HPLC 法测定栀子中栀子苷的含量。结果: 栀子苷在 0.03 ~ 0.24 μg 范围内呈良好的线性关系: $r = 0.9997$, 平均回收率 98.89%, RSD 为 1.79%。结论: 所建立的方法简便可行, 重现性好。为牛黄清胃丸质量控制提供了方法。

关键词 牛黄清胃丸 高效液相色谱; 栀子苷; 质量标准

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2007)-3-29-3

Studies on Quality Standard of Niu Huang Qing Wei Pills()

Song Bao-peng, Xu Shi-wei, Li Yan-xue(Jixi Institute for Drug Control of Heilongjiang Province, Jixi 158100)

Abstract Objective: To establish a quality standard of Niu Huang Qing Wei Pills. **Methods:** Geniposide was determined by HPLC. **Results:** Geniposide showed a good linear relationship in the range of 0.03 ~ 0.24 μg ($r = 0.9997$). The mean recovery was 98.89%, and RSD was 1.79%. **Conclusions:** The established methods are simple, feasible and reproducible. This study provided a method for the quality control of Niu Huang Qing Wei Pills.

Key words Niu Huang Qing Wei Pills; HPLC; Geniposide; Quality standard

牛黄清胃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一册(1989), 由大黄、栀子、黄柏、黄芩、牛黄等十九味中药组成, 具有清胃泻火, 润燥通便之功效, 用于心胃火盛, 头晕目眩, 口舌生疮, 牙龈肿痛, 乳蛾咽痛, 便秘尿赤。原质量标准中, 只有显微鉴别, 无其他检验项目, 本实验采用 HPLC 法对方中栀子所含栀子苷进行含量测定, 以便对该制剂进行质量控制。

一、仪器与试剂

美国惠普 HP1100 高效液相仪; HP1100 化学工作站, 紫外检测器。超声波清洗器(HT-400 型) 济宁恒通电子设备厂; 电子分析天平(BP224S) 德国赛多利斯。甲醇为色谱纯, 栀子苷购自中国药品生物制品检定所, 批号为 110749-200410。牛黄清胃丸为市售品, 批号为 4015511、050502、200501011。

二、方法与结果

1. 色谱条件 色谱柱 Hypersil C₁₈ 柱(5 μm ; 4mm $\times$ 250mm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液(27/73); 流速 0.8ml/min; 检测波长 239nm; 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μl 。

2. 溶液的制备

2.1 供试品溶液的制备 取重量差异项下的

牛黄清胃丸, 剪碎, 混匀, 取约 4g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25ml, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 400w; 频率 40KHz) 30 分钟, 放冷, 称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 精密量取滤液 10ml, 置氧化铝柱(内径 1cm, 中性氧化铝 5g, 100~200 目, 干法装柱) 上, 用甲醇 40ml 洗脱, 收集洗脱液, 置 50ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称定栀子苷对照品 3mg, 置 200ml 量瓶中, 加甲醇至刻度摇匀, 即得。(含栀子苷 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

2.3 阴性对照液的制备 按处方配比模拟工艺制成缺栀子的阴性对照品, 按 2.2.1 项下方法操作, 作为阴性对照品液。

3. 系统适用性试验 分别取对照品溶液, 供试品溶液, 阴性对照液 10 μl 注入色谱仪, 记录色谱图, 见图 1~3。栀子苷峰保留时间约为 10.9min, 阴性对照色谱图在栀子苷峰位置无峰, 即本实验条件下栀子苷与其它组分分离完全, 表明其它组分对测定无干扰。栀子苷峰与其它组分的分离度为 4.1, 理论塔板数以栀子苷峰计算为 2789。

4. 线性关系考察 精密吸取对照品溶液, 分别

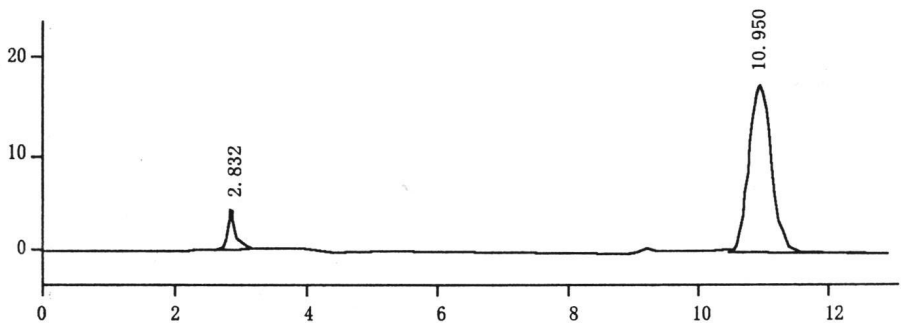


图1 栀子苷对照品溶液的 HPLC 色谱图

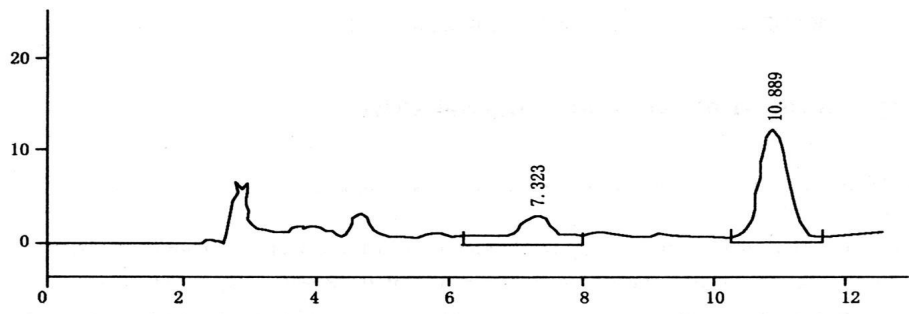


图2 样品 HPLC 色谱图

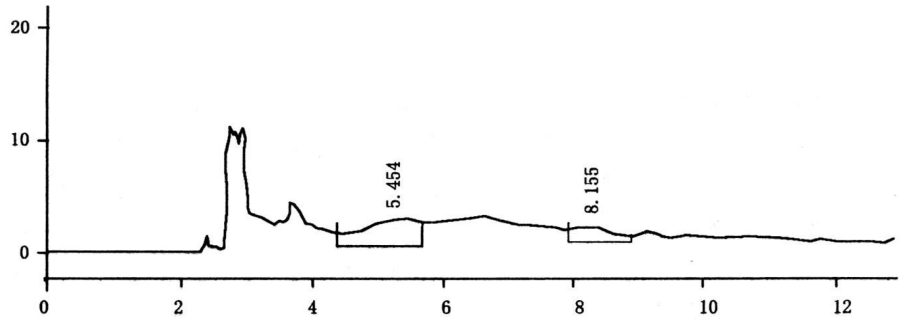


图3 阴性对照液的 HPLC 色谱图

进样 2、4、8、12、16 μ l, 测定峰面积。以峰面积(A)对质量浓度(C)进行积分, 得回归方程为 $A = 3032.111C - 6.484$ 。 $Y = 0.9997$ (n= 5)。栀子苷线性范围为 0.03~0.24 μ g。

表1 栀子苷回收率测定结果

编号	样品中栀子苷的含量 / mg	加入栀子苷的量 / mg	加入栀子苷的体积 / ml	测得栀子苷的量 / mg	回收率 %	平均回收率 %	RSD %
1	2.756	2.500	1.0	5.182	98.59		
2	2.748	2.500	1.0	5.028	95.81		
3	2.729	2.500	1.0	5.135	98.20		
4	2.699	2.000	0.8	4.589	97.66		
5	2.674	2.000	0.8	4.617	98.78	97.97	1.05
6	2.735	2.000	0.8	4.599	97.12		
7	2.738	1.500	0.6	4.106	96.88		
8	2.719	1.500	0.6	4.176	98.98		
9	2.749	1.500	0.6	4.168	98.09		

6. 重现性试验 取批号 401551 样品, 按 2.2.1 项下方法操作, 制备 5 份供试品溶液, 分别取 10 μ l 进样, 计算栀子苷含量, 结果 RSD 为 1.53%。

7. 稳定性试验 取供试品溶液按上述条件分析, 在 0、2、4、6、8h 进行测定峰面积, 计算其 RSD 为 1.42%, 表明供试品在 8h 内基本稳定。

8. 回收率试验 分别精密称取含栀子 2.75mg/ 丸的牛黄清胃丸, 9 份, 各约 4g, 分别精密加入 2.5mg/ml 栀子苷 1、0.8、0.6ml 各 3 份, 按 2.1 项下方法操作, 同法进行测定, 结果见表 1。

9. 样品测定 按 2.1 项下方法操作, 制备三批样品溶液, 精密吸取 10 μ l 分别进行测定, 结果见表 2。

表2 牛黄清胃丸中栀子苷的测定结果

批号	栀子苷(mg/ 丸)	RSD%
050502	2.201	1.23%
4015511	2.751	0.88%
20050101	2.145	1.42%

5. 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μ l。重复进样测定 5 次, 测定峰面积, RSD 为 0.47%。

10. 定量限试验: 取批号为 40155111、含量为

2. 751mg/丸的牛黄清胃丸, 依 2.2.1 项下操作, 得供试品溶液, 空白样品、稀释一定倍数的供试品溶液分别取 10 μ l 进样, 记录色谱图, 见图 4~5。空白样品图谱中除溶剂峰外最高峰为 0.36mAU, 结果供试品溶液稀释 5.2 倍时以 10 μ l 进样, 供试品中被测峰高

为 3.6mAU, 此时信噪比为 10⁻¹, 经计算定量限为: 0.028 μ g。配制 6 份定量限浓度的溶液依上述方法测定, 栀子苷峰的保留时间分别为 10.699min、10.683min、10.717min、10.692min、10.700min、10.738min、相对标准差为: 0.2%。

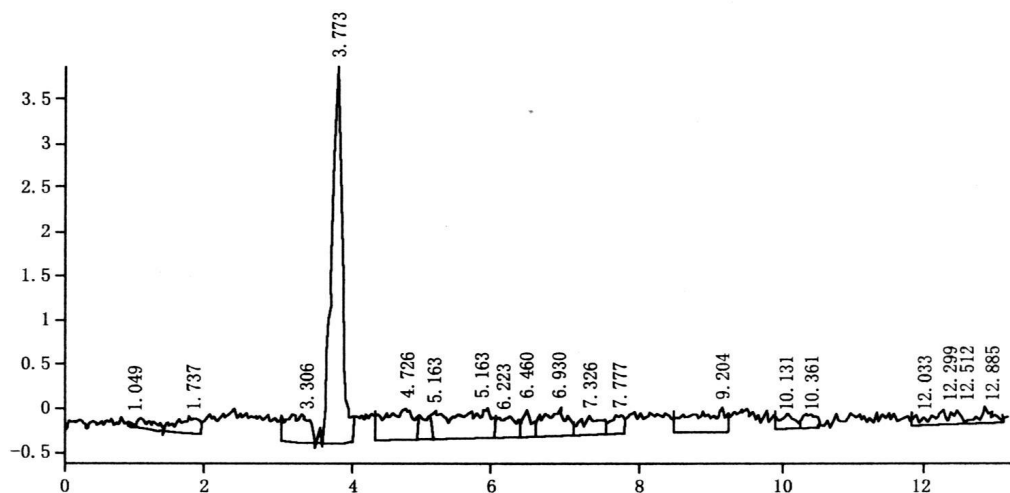


图4 空白样品 HPLC 色谱图

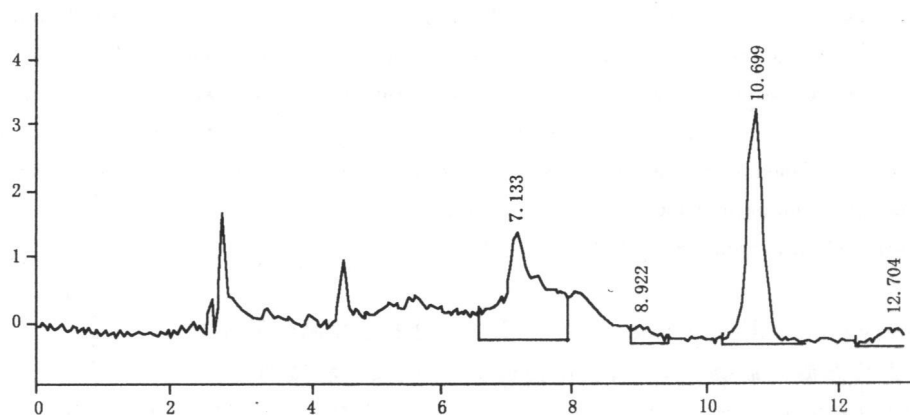


图5 供试品 HPLC 色谱图

三、讨论:

1. 曾选用乙腈-水 (15 : 85)^[1]; 乙腈-水-磷酸 (14 : 86 : 0.05)^[2] 作为流动相, 样品的分离效果差, 采用甲醇-0.2% 磷酸溶液 (30 : 70)^[3] 经多种比例选择, 采用甲醇-0.2% 磷酸溶液 (27 : 73) 能消除干扰, 使样品中栀子苷分离度好, 理论板数高。

2. 曾采用甲醇提取后直接进样, 栀子苷分离度

小, 有干扰, 后采用文中方法制备供试品后进样, 栀子苷得到较好的分离。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典一部. 2005: 173
- [2] 中华人民共和国药典一部. 2005: 382
- [3] 中华人民共和国药典一部. 2005: 652