ance liquid chromatographic method for determination of amodiaquine, chloroquine and their monodesethyl metabolites in biological samples[J]. Journal of Chromatography B, 2003, 783: 473-480.

[3] Gitau EN, Muchohi SN, Ogutu BR, *et al*. Selective and sensitive liquid chromatographic assay of amodiaquine and desethylamodiaquine in whole blood spotted on filter paper[J]. Journal of Chromatography B, 2004, 799: 173-177.

[4] Dua VK, Gupya NC, Sharma VP, *et al*. Liquid chromatographic determination of amodiaquine in human plasma[J]. Journal of Chromatography B, 2004, 803: 371-374.

[收稿日期] 2005-09-22

牛黄前列清栓质量标准的研究

向梅先[1], 苏汉文[2], 杨光忠[1]　(1. 中南民族大学生命科学学院, 湖北 武汉 430074, 2. 武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

[摘要]　目的: 建立前列清栓质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法进行定性鉴别, 用高效液相色谱法测定黄芩苷的含量。结果: 薄层定性鉴别条件适合, 斑点清晰。高效液相色谱定量方法分离效果好, 线性范围0.21~2.08 μg(r = 0.999 5)。结论: 本方法简便、快速准确, 可作为该制剂质量控制方法。

[关键词]　牛黄前列清栓; 黄芩苷; 高效液相色谱法; 薄层色谱

[中图分类号] R944.9　[文献标识码] A　[文章编号] 1001-5213(2006)06-0706-02

Study on the quality standard for Niuhuang Qianlieqing suppositories

XIANG Mei-xian[1] SU Han-wen[2], YANG Guang-zhong (1. South-Central University for Nationalities, Hubei Wuhan, 430074, China; 2. Renmin Hospital of Hubei University, Hubei Wuhan 430060, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quality standard for Niuhuang qianlieqing suppositories. **METHODS** TLC was used for the identification. Baicalin was determined by HPLC. **RESULTS** Conditiongs for TLC identification and HPLC detormination were suitable. **CONCLUSION** The methods can be used for the quclity control for the suppositories.

KEY WORDS: Niuhuang Qianlieqing suppositories; baicalin; HPLC; TLC

牛黄前列清栓由牛黄、丹参、黄芩、冰片等中药组成。具有清热凉血、养阴燥湿、活血祛淤、通筋止痛之功效。主要用于治疗急、慢性前列腺炎, 尿道炎, 痔疮等症。为了更好地控制本品质量, 本实验采用高效液相色谱法(HPLC)测定黄芩中黄芩苷的含量。现报道如下。

1　材料

Agilent1100 高效液相色谱系统(美国惠普公司); CIV-240IPC 紫外分光光度计(日本Shimadzu公司); 牛黄前列清栓(中南民族大学民族药物研究所, 批号 200401120, 200401121, 20041122); 黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所); 试剂均为分析纯; 水为注射用水。

2　方法

2.1　薄层色谱鉴别

2.1.1　牛黄　取本品 1 粒, 置具塞试管中, 加苯 10 mL 超声处理 2 次, 每次 5 min, 离心, 倾去苯液, 残渣加无水乙醇 10 mL, 超声处理 5 min, 滤过, 滤液置水浴上蒸干, 残渣加乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取胆酸、去氧胆酸对照品, 加乙醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合溶液, 作为对照溶液。照薄层色谱法[1]试验, 吸取上述供试品溶液 10 μL, 对照品溶液 2 μL, 分别点于同一以0.4%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-正己烷-36%醋酸-甲醇(32∶6∶1∶1, v/v)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 磷钼酸无水乙醇, 在 105 ℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品相应的位置上, 显相同颜色的两个斑点。

2.1.2　黄芩　符合中国药典黄芩鉴别项有关规定[1]。

2.1.3　丹参　取本品 1 粒, 加水 20 mL, 置温水浴中加热溶解, 放置室温, 用乙醚提取 2 次, 每次 20

[基金项目] 中南民族大学校青年资金(编号: YZQ04001)　[作者简介] 向梅先, 女, 硕士, 助教, 电话: 027-62160465, E-mail: xiangmeixian99@163.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

mL, 分取水层, 加稀盐酸调节至 pH 2, 用醋酸乙酯 20 mL 提取, 分取醋酸乙酯层, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取丹参对照药材 0.3 g, 加 70% 乙醇 10 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 溶解, 用乙醚提取 2 次, 合并两次提取液, 浓缩定容制成对照药材溶液。照薄层色谱法[1] 试验, 吸取上述两种溶液各 1 μL, 分别点于同一以0.4 % 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-甲酸(7.5∶6∶1.2, v/v) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 铁氰化钾-三氯化铁(1∶1, 用时临时配制) 混合溶液。供试品色谱中 在与对照药材色谱峰相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.1.4 冰片[2] 取本品 1 粒, 加醋酸乙酯 10 mL, 超声处理 5 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取冰片对照药材, 加醋酸乙酯制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法[1] 试验, 吸取上述两种溶液各 2 μL, 分别点于同一以0.4% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯(17∶1, v/v) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 磷酸无水乙醇溶液, 在 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。

2.2 黄芩苷含量测定

2.2.1 色谱条件 采用 KromasiL C_{18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 7 μm)。流动相: 甲醇-水-冰醋酸(42∶58∶1, v/v); 波长 276 nm; 柱温: 40 ℃; 流速0.8 mL·min^{-1}; 进样量: 20 μL; 灵敏度: 0.05AUFS, 理论塔板数按黄芩苷计算应不低于5 000。黄芩苷对照品、样品、阴性对照品色谱图见图 1。

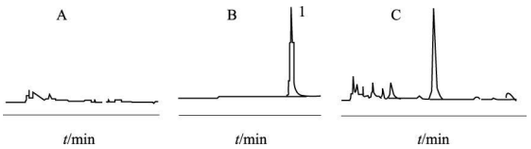

图 1 牛黄前列清栓高效液相色谱图

A. 空白对照品; B. 对照品; C. 样品; 1-黄芩苷

Fig 1 HPLC chrmatograms of Ninhuang Qianlieqing suppositories

A. biank sample; B. chemical reference substance; C. sample; 1-Baicalin

2.2.2 标准曲线的制备 精密吸取黄芩苷对照品加适量甲醇配制成0.1 g·L^{-1}的对照品溶液, 分别进样 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 μL, 测定吸收峰面积。以黄芩苷进样量(μg) 为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。计算, 得线性回归方程: Y = 820 714.5X − 4 051.9, r = 0.999 5(n = 6)。结果表明, 黄芩苷在0.21~ 2.08 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 取上述对照品溶液, 重复进样 5 次, 每次 20 μL, 测定, 结果黄芩苷峰面积平均值为 1 477 452.5, RSD 为1.23% (n = 5)。

2.2.4 稳定性试验 取供试品溶液, 于 0, 6, 12, 24, 48 h 分别进样 20 μL 测定, 结果, 黄芩苷峰面积平均值为1 542 813.1, RSD 为0.77%(n = 6)。表明黄芩苷溶液在 48 h 内基本稳定。

2.2.5 重复性试验 取同一批号的供试品 5 份, 照样品测定方法处理并测定, RSD 为1.38% (n = 5)。表明该方法重复性良好。

2.2.6 回收率试验 取牛黄前列清栓内容物0.5 g, 精密称定, 加温水 40 mL, 超声处理 5 min, 再用 5% 氢氧化钠调 pH 至7.5, 超声处理 2 min 至充分溶解。分别加入一定量的对照品溶液中, 后加水至 80 mL, 按2.2.2测定方法操作, 计算回收率, 黄芩苷平均回收率为99.1%, RSD 为1.48% (n = 5), 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n = 5)

Tab 1 Results of recovery of added standard (n = 5)

取样量/g	样品中黄芩苷含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.4015	4.22	4.40	8.56	98.6		
0.3636	3.82	3.95	7.67	97.5		
0.3766	3.96	3.89	7.91	101.5	99.1	1.48
0.2449	2.57	2.27	4.82	99.1		
0.2356	2.48	2.60	5.05	98.8		

2.2.7 样品测定 取本品 3 批, 按前面含量测定方法进行试验和测定 2 次, 并按外标法以峰面积计算, 结果平均含量分别为 15.98, 15.95, 16.00 mg/粒。

3 讨论

对处方中牛黄, 冰片、黄芩、丹参, 进行了薄层鉴别, 分离度好, 斑点清晰, 阴性对照无干扰。处方中牛黄和黄芩为君药, 对黄芩的主要有效成分进行了含量测定, 结果表明, 该方法稳定可靠, 可作为控制和衡量其质量标准的依据。

在选择流速的时候, 比较了1.0 mL·min^{-1}和0.8 mL·min^{-1}。流速为1.0 mL·min^{-1}时, 柱压较高。为了保护柱子, 故选择0.8 mL·min^{-1}作为流速。

供试品的 pH 对黄芩苷含量的测定影响较大, 而 pH 值在7.5~ 7.7之间时, 不仅含量测定较高, 而且稳定性好。

参考文献:

[1] 中国药典. 一部[S]. 2000. 附录37.

[2] 干国平, 杨艳芳, 肖佐强. 八宝眼粉质量标准的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(4): 210-211.

[收稿日期] 2005-08-01

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net