

3 讨论

3.1 文献报道阿魏酸水溶液随时间推移,阿魏酸 HPLC 峰峰面积不断下降^[1],亦有文献报道灌装于安瓿中的阿魏酸水溶液分解 10% 的时间为 19 个月^[2]。预试表明阿魏酸水溶液配制放置 48 h 后,阿魏酸含量即明显下降,但本品常温放置 6 个月,阿魏酸含量基本稳定,说明注射液虽为水溶液,但密封保存可使阿魏酸含量基本保持稳定,故可选用阿魏酸作为天芎注射液的含量测定指标。

3.2 溶剂的选择:取川芎粉末适量,分别以水、甲醇、10% 乙醇、20% 乙醇、30% 乙醇、40% 乙醇、50% 乙醇为溶剂,静置后测定阿魏酸的含量。结果溶剂为水或乙醇浓度小于 40% 时,阿魏酸峰形好,和相邻峰能很好分离;且溶剂的乙醇浓度越高,阿魏酸提取率越高。故选择溶剂为 30% 乙醇。

3.3 提取时间的选择:取川芎粉末适量,以 30% 乙醇为溶剂,分别静置 0、24、36 h 测定阿魏酸的含量,结果静置 24、36 h 测得的阿魏酸的含量基本一致,说明静置 24 h,阿魏酸可提取完全。

3.4 制备天芎注射液供试液的条件考察:阿魏酸能溶于醇、热水和醋酸乙酯,稍溶于乙醚,难溶于苯和石油醚。曾试验取天芎注射液用醋酸乙酯、乙醚、正丁醇等溶剂提取,结果用醋酸乙酯或乙醚,提取溶液极易乳化,采用盐析、加热、放置等方法均不能完全分层;经试验用水饱和正丁醇溶液提取不乳化,提取 6 次能将阿魏酸提取完全,故采用正丁醇提取。合并正丁醇提取液,减压蒸干,残渣曾试验用热水、甲醇、温热的甲醇-5% 醋酸溶液 (1:4) 为溶剂溶解。结果以热水、甲醇为溶剂时阿魏酸易分解为双峰;以温热的甲醇-5% 醋酸溶液 (1:4) 为溶剂,阿魏酸溶液在冰箱放置 10 d 基本不变,故残渣用温热的甲醇-5% 醋酸溶液 (1:4) 溶解稀释制成供试品溶液。

References

- [1] Jia X B, Shi Y F, Huang Y P. Improvement of HPLC determination of ferulic acid in *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(6): 37-38.
- [2] Li X L, Zhou Z K. Study on the stability of ferulic acid solution [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1993, 15(8): 5-6.

HPLC 法测定清咽滴丸中胆红素的含量

姜玉凤¹, 许 岚¹, 边兴坤¹, 孟庆军^{2*}

(1. 天津市长征医院, 天津 300021; 2. 天津市第六中药厂, 天津 300401)

清咽滴丸由中新药业集团天津市第六中药厂生产,由牛黄、青黛、冰片、薄荷脑等多味中药组成,是治疗风热喉痹(急性咽炎)的常用药。牛黄为君药。为了更好地控制该药的质量,本实验采用 HPLC 法对胆红素进行测定^[1-3]。该方法准确、可靠、重现性好,易于掌握。

1 仪器与试剂

日本岛津 LG-10A 高效液相色谱仪, CR-4A 色谱仪, SPD-2AS 紫外检测器。清咽滴丸(天津市第六中药厂),胆红素对照品(中国药品生物制剂检定所提供,批号: 0785-0110,供含量测定用),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: C₁₈ ODS 柱 (250 mm×4.6 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇-二甲基亚砜-2% 醋酸 (51:34:15); 检测波长: 450 nm; 柱温: 30℃; 灵敏

度: 0.05 AUFS; 进样量: 20 μL。色谱图见图 1。

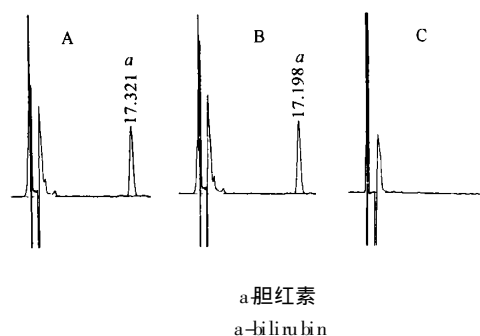


图 1 胆红素(A)、清咽滴丸(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of bilirubin (A), Qing-yan Dropping Pill (B) and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取胆红素对照品 5.63 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 用氯仿-冰醋酸 (4:1) 超声震荡 10 min, 并用氯仿-冰醋酸 (4:1) 稀

释至刻度,摇匀。精密吸取 10 mL此溶液于 50 mL量瓶中,用氯仿-冰醋酸(4∶1)稀释至刻度,即得(11.2 μ g/mL)

2.3 供试品溶液的配制:精密称取清咽滴丸 1.4 g,于 10 mL磨口瓶中,用氯仿-冰醋酸(4∶1)适量,超声震荡 30 min,放冷后置试管离心 10 min(1 000 r/min),倾取上清液,置 10 mL棕色瓶中,用氯仿-冰醋酸(4∶1)稀释到刻度,即得。同法制得缺牛黄阴性对照溶液。

2.4 线性关系考察:分别取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL置 100 mL棕色量瓶中,加氯仿-冰醋酸(4∶1)至刻度,摇匀。每个浓度精密吸取 10 μ L注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算得回归方程: $Y=218.10-19.688.72X$, $r=0.9996$ 。结果表明,胆红素在 1.126~5.630 μ g/mL与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验:取同一份对照品溶液(11.2 μ g/mL)连续进样 6次,每次 10 μ L,测定胆红素峰面积,计算得其 RSD=1.17%。

2.6 重现性试验:取同一批号(020923批)样品 5份,按上述方法制成供试品溶液,分别进样,测定胆红素峰面积,结果其 RSD=2.36%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液,分别放置 0, 0.5, 1, 1.5, 2.0 h后进样,测定胆红素峰面积,结果其 RSD=2.59%。

2.8 回收率试验:取同一批号(020923批)样品 6份(每份大约 0.7 g),置 10 mL棕色量瓶中,其中一份为空白对照,另外 5份分别加入对照品溶液

(4.504 μ g/mL) 5 mL,按上述方法制成供试品溶液,分别进样,测定胆红素峰面积,计算回收率,结果平均回收率为 102.40%。RSD=1.69%。

2.9 样品测定:取 3个批号的样品,依 2.3项下方法制成供试品溶液,0.50 μ m滤头滤过,进样 10 μ L,结果见表 1。

表 1 清咽滴丸中胆红素的含量测定结果 (n=3)		
Table 1 Bilirubin in Qingyan Dropping Pill (n=3)		
批号	胆红素含量/(μ g $\cdot$ g $^{-1}$)	RSD/%
020923	24.89	1.14
020714	21.41	1.88
020820	19.13	1.37

3 讨论

3.1 胆红素是人工牛黄中主要成分之一,故作为检测指标,因其原料在清咽滴丸中是以原粉加入,故选用溶解度较大的流动相氯仿-冰醋酸(4∶1)作为样品溶出剂。

3.2 曾采用醋酸乙酯作为样品提取溶媒,能去除大部分杂质,但溶出效果不理想,操作不方便,经对比以流动相氯仿-冰醋酸(4∶1)为溶媒,超声提取 30 min能充分溶出样品中的胆红素。

References

[1] Yang Y P. Determination of bilirubin in artificial ox-gallstone by HPLC [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 1995, 7(2): 15-18.
[2] Zhu K Y. Determination of bilirubin in ox-gallstone by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16(7): 41-42.
[3] Yang Z. Determination of bilirubin in Suxiao Niu Huang Pill by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Coll* (沈阳药学院学报), 1993, 10(2): 94-96.

关于编辑出版以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的 《中草药》杂志 2004年增刊的征文启事

为了加速中药现代化进程,促进中药产业的技术创新,本刊拟在 2004年下半年编辑出版以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的增刊,现征文通知如下。

征文内容:① 中药现代生物技术的开发与应用,如基因工程、细胞工程、发酵工程等现代生物技术在中药材种源的保护、鉴别、优化和可持续利用方面的应用。② 中药有效成分提取、分离和结构鉴定新技术,如超临界萃取、膜分离、超滤、大孔吸附树脂色谱等。③ 中药有效成分分析的新仪器和新方法,如液-质联用技术、热分析等。④ 中药现代药理学研究方法,如血清药理学、细胞分子药理学和中药药动学等。⑤ 中药新剂型的研究,如透皮吸收制剂、靶向药物制剂、微粉技术、纳米制剂、缓释、控释制剂等。

征文截止时间:2004年 7月底,其他要求见《中草药》杂志 2004年第 1期“投稿须知”。欢迎广大读者踊跃投稿,来稿请寄天津市南开区鞍山西道 308号《中草药》杂志编辑部,邮编:300193。稿件上请注明“增刊征文”字样。

《中草药》杂志编辑部