

薄层扫描法测定牛黄降压丸及胆南星中猪去氧胆酸的含量

万绍晖 张国民¹ 齐赤虹² 罗昭光

(河南省开封医学高等专科学校 475001)

牛黄降压丸及胆南星为常用药物,市场需要量很大,至今均没有可靠的含量测定方法。本文以主要有效成分之一的猪去氧胆酸为指标进行双波长薄层扫描测定,获得满意结果。

1 仪器、试剂与样品

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津公司);硅胶 G(薄层色谱用青岛海洋化工厂);501 型超级恒温器(上海市实验仪器厂);5 μ l 与 10 μ l 微量进样器(上海医用激光仪器厂);猪去氧胆酸对照品(中国药品生物制品检定所);牛黄降压丸(开封市中药厂,批号:960206,960202,951004);胆南星(开封市中药厂,批号:950306,940902,950402;开封市药品检验所中药室鉴定)。其它试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 分析方法的建立

2.1.1 薄层层析条件的筛选与确定 有关胆汁酸类物质的薄层层析条件报道较多^[1~4],经筛选改进,选用硅胶 G 薄层板(厚约 0.3mm,110 C 活化 30min),以氯仿-乙醚-冰醋酸(2:2:1)为展开剂,10%磷钼酸无水乙醇液为显色剂,在 105 C 加热 6min~7min,显色,用洁净玻璃板覆盖。

2.1.2 仪器参数 采用双波长反射法锯齿扫描,狭缝 1.25 \times 1.25mm, $\lambda_i=700\text{nm}$, $\lambda_R=450\text{nm}$,SX=3。

2.1.3 标准曲线及线性范围^[5] 精密称取猪去氧胆酸对照品 0.0175g,用无水乙醇定容至 10ml。分别精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5、6、7、8 μ l,点于同一薄层板上,展开 17cm,显色剂喷雾显色,用薄层扫描法测定各猪去氧胆酸斑点积分值,求得回归方程 $Y=5.74\times 10^4+4.66\times 10^4X$, $r=0.9989$, $n=6$,对照品浓度在 3.50mg/ml~12.25mg/ml 范围内时 A 与 C 呈线性。因直线不过原点,所以采用外标二点法定量。

2.1.4 稳定性试验^[6] 对上述薄层板的同一斑点依法每隔 30min 扫描一次,共测定 0h~2h,测得峰面积积分值,求得 $RSD=0.9\%$, $n=5$ 。故猪去氧胆酸在本实验条件下 2h 内稳定。

2.1.5 阴性试验 取牛黄降压丸处方比例的除牛黄外的各组分,依法制剂、薄层层析,样品薄层色谱中在猪去氧胆酸相应的位置上没有斑点。另取生天南星细粉,依法进行薄层层析,样品薄层色谱中在猪去氧胆酸相应的位置上没有斑点。

2.1.6 精密度试验 在同一块薄层板上点 2 个对照品溶液(分别为 3 μ l、5 μ l)及 5 个样品溶液(配制方法见 2.2),外标两点法定量。

牛黄降压丸 $RSD(\%)3.0$;胆南星 $RSD(\%)3.5$ 。将同一供试液分别点于 5 块薄层板上(点样模式同上),依法定量。牛黄降压丸 $RSD(\%)3.6$;胆南星 $RSD(\%)3.8$ 。

2.1.7 重现性试验 对同一批样品,按 2.2 中方法依法测定 5 份。

牛黄降压丸(960202) $RSD(\%)3.4$;

胆南星(950301) $RSD(\%)3.4$ 。

2.1.8 回收率试验 精密称取牛黄降压丸或胆南星样品溶液所用细粉或碎片,分别为 2.1220g 及 7.6080g,加硅藻土,充分研匀,精密加入猪去氧胆酸对照品氯仿液(1.70mg/ml)0.50ml,照各自样品溶液配制,自“加氯仿 80ml”起,即得。在同一薄层板上点 2 个对照品溶液(分别为 3 μ l、5 μ l)、2 个 2 μ l 的牛黄降压丸样品溶液及 2 个 2 μ l 的牛黄降压丸回收率试验溶液(或 2 个 5 μ l 的胆南星样品溶液及 2 个 5 μ l 的胆南星回收率试验溶液),依法定量,结果见表 1。

2.2 样品测定 牛黄降压丸样品溶液的配制:取 10 丸,仔细剪碎,混匀,精密称取约 2.0g,加硅藻土 3g,充分研匀,加氯仿 80ml,超声处理 30min,滤过,滤渣用氯仿洗 3 次(15ml \times 3),合并滤液及洗液,蒸尽氯仿,残渣以无水乙醇定量转移并定容至 2ml。胆南星样品溶液的配制:精密称取粉碎研细的胆南星约 7.0g,加硅藻土 6g,充分研匀,加氯仿 80ml,超声处理 30min,滤过,滤渣用氯仿洗 3 次(20ml \times 3),合并滤液及洗液,蒸尽氯仿,残渣以无水乙醇定量转移并定容至 2ml。在同一薄层板上点 2 个对照品溶液(分别为 3 μ l、5 μ l)及 3 个 2 μ l 的牛黄降压丸样品溶液或 3 个 5 μ l 的胆南星样品溶液,依法定量。同法测定了 3 批样品,结果见表 2。

1 开封市药品检验所 475002

2 河南省医药学校 475001

表1 回收率试验

品种	样品中含量 (μg)	加入对照品 (μg)	测得对照品 (μg)	回收率 (%)	RSD (%)
牛黄 降压 丸	6.355	0.85	0.88	103.5	2.8
	6.017	0.85	0.84	98.8	
	6.287	0.85	0.82	96.5	
	6.434	0.85	0.87	102.4	
	6.326	0.85	0.86	101.2	
胆 南 星	3.462	2.125	2.174	102.3	2.9
	4.178	2.125	2.032	95.6	
	3.345	2.125	2.078	97.8	
	3.540	2.125	2.053	96.6	
	4.023	2.125	2.025	95.3	

表2 样品测定

样 品	批号	含量(mg/丸)
牛黄降压丸	960206	4.77
	951004	5.01
	960202	5.71
胆南星	950306	0.20
	940902	0.14
	950402	0.19

3 小结

3.1 方法所用薄层层析系统及扫描条件经多个品

种反复验证^[4],证明分离效果好,检出斑点清晰圆整,方法专属性强、数据重现性好,不需特殊试剂。故方法可靠;中国药典(1995年版)收录的含猪去氧胆酸的中药材及中成药达30余种,薄层扫描仪在药检所及中药厂应用普遍,故本法具良好推广应用前景及价值。

3.2 购得的猪去氧胆酸对照品经上述薄层层析后显示除主斑点外尚有一杂质斑点,用归一化法求出主斑点含量为90.7%(RSD=1.8%, $n=5$)。本文中有关含量均为折合后含量。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典(一部). 广州:广东科学技术出版社,1995. 345,346,384,394,436,502
- 2 倪坤仪,常丽萍,陈凤玲等. 六应丸中牛黄有效成分的薄层扫描. 中国药科大学学报,1989,20(2):100
- 3 张健军,薄少英,徐航利等. 双波长薄层扫描法测定清开灵注射液中牛胆酸及猪去氧胆酸的含量. 中国医院药学杂志,1991,11(6):260
- 4 万绍晖,束刚,张萱等. 薄层扫描法测定发酵前后猪胆汁中猪去氧胆酸的含量. 中国药学杂志,1997,32(2):108

(收稿:1998-03-13)