

# 紫外分光光度法测定牛黄至宝丸中胆红素的含量

刘力丰\*

(长春中医药大学附属医院, 长春 130021)

[摘要] 目的: 建立牛黄至宝丸中胆红素的含量测定方法。方法: 本实验采用紫外分光光度法, 以药典方法测定胆红素的含量, 用重氮化试剂显色, 对样品的提取检测波长为 533 nm, 结果: 牛黄至宝丸中胆红素的含量限度为不低于 29.8  $\mu\text{g}/\text{丸}$ , 胆红素浓度在 0.009 8 ~ 0.049 8  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  与吸收度呈良好的线性关系 ( $r=0.999 9$ ,  $n=5$ ), 平均回收率为 98.74% (RSD 0.45%,  $n=6$ )。结论: 该法简便、快速、稳定、可靠, 可用于测定牛黄至宝丸中胆红素的含量。

[关键词] 牛黄至宝丸; 人工牛黄; 胆红素; 紫外分光光度法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0062-02

## Determination of Bilirubin in Niu Huang Zhi Bao Pills by Ultraviolet Spectrophotometry

LIU Li-feng\*

(Affiliated Hospital of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130021, China)

**[Abstract] Objective:** To establish a method of determination of bilirubin in Niu Huang Zhi Bao Pills. **Method:** Bilirubin was determined by UV spectrophotometry according to Pharmacopoeia. The detection wavelength was at 533 nm. **Result:** The average levels of bilirubin in the Niu Huang Zhi Bao Pills was 29.8  $\mu\text{g}$  one pill. Bilirubin was linear in the range of 0.009 8 ~ 0.049 8  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  with  $r=0.999 9$ , ( $n=5$ ). The average recovery ( $n=6$ ) was 98.74% (RSD 0.45%). **Conclusion:** The methods were proved to be simple sensitive and reproducible. It can be used for the quality control of Niu Huang Zhi Bao Pills.

**[Key words]** Niu Huang Zhi Bao Pills; artificial bezoar; bilirubin; UV spectrophotometry

牛黄至宝丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》第三册<sup>[1]</sup>, 由大黄、栀子、人工牛黄等药物组成, 具有清热解毒, 镇静安神的功效, 主要用于胃肠积热引起的头痛眩晕, 口燥咽干, 大便燥结等<sup>[2]</sup>。其中人工牛黄含有效成分胆红素, 其质量标准中未收载含量测定方法, 无法全面评价牛黄至宝丸的内在标准, 且未见采用紫外分光光度法测定牛黄至宝丸中胆红素含量的相关文献报道。为能更好的效控本制剂质量, 本文采用紫外分光光度法对胆红素进行含量测定。

### 1 材料

**1.1 仪器** 紫外-可见分光光度计(美国 Varian 公司); BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司); 电热恒温水浴锅(江苏南通县通海电器厂)等。

**1.2 试剂** 胆红素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 10077-0101); 水为蒸馏水; 牛黄至宝丸(规格: 6 g/丸)。其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取胆红素对照品 10 mg 至 100 mL 棕色量瓶中, 加三氯甲烷溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 5 mL 至 50 mL 棕色量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 中含胆红素 10  $\mu\text{g}$ )。

**2.2 供试品溶液的制备** 取装量差异项下的内容物, 混匀, 精密称取 10 粒装量的胶囊粉, 置圆底烧瓶

[收稿日期] 20100521

[通讯作者] \* 刘力丰, 主管药师, 研究方向中药有效成分及应用开发研究, Tel: 15948000752, E-mail: lifengliu00@163.com

中,加三氯甲烷-乙醇(7:3)混合溶液 60 mL,盐酸 1 滴,摇匀,置水浴 65 ℃ 中加热回流 30 min,放冷,置 100 mL 棕色量瓶中,容器用少量混合溶液洗涤,洗液并入同一量瓶中,加上述混合溶液至刻度,摇匀。精密量取上清液 10 mL,置 50 mL 棕色量瓶中,加乙醇至刻度,摇匀,即得。

**2.3 测定波长的选择** 精密量取胆红素对照品 2 mL,置具塞试管中,加乙醇至 9 mL,精密加入重氮化溶液(甲液:取对氨基苯磺酸 0.1 g,加盐酸 1.5 mL 与纯化水适量使成 100 mL。乙液:取亚硝酸钠 0.5 g 用纯化水溶解并稀释至 100 mL,置冰箱内保存。临用时取甲液 10 mL、乙液 0.3 mL,混匀) 1 mL,摇匀,在 15 ℃ 暗处放置 1 h,以相应试剂为空白,扫描,在 400 ~800 nm 波长范围内测定吸收光谱。结果胆红素对照品溶液在 533 nm 波长处有最大吸收峰,故以 533 nm 为测定波长。

**2.4 标准曲线的绘制** 精密量取 2.1 项下对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL,置具塞试管中,分别加乙醇至 9 mL,按 2.3 项下自“精密加入重氮化溶液”起依法操作,相应试剂为空白,在 533 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 7.188X - 0.003$ ,  $r = 0.9999$ 。胆红素在  $0.0098 \sim 0.0498 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  与吸光度呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 取胆红素对照品溶液,按上述的方法重复测定 6 次,记录每次测定结果。通过计算得吸光度的 RSD 0.32%,表明精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取胆红素对照品溶液,分别于配制后 0, 2, 4, 8 h,按上述方法测定吸光度。通过计算得吸光度的 RSD 0.589%,表明对照品溶液在 8 h 之内稳定。

**2.7 重复性试验** 分别精密吸取胆红素标准液 3 mL 6 份,按标准曲线项下操作,测得吸光度的 RSD 0.09%。表明有较好的重复性。

**2.8 回收率试验** 精密称取同一批号的样品细粉约 1 丸总量置圆底烧瓶中,按 2.2 项下方法制备溶液 6 份,在 533 nm 波长处测定其吸光度,加胆红素对照品 0.06 mg 计算胆红素平均回收率为 98.74%,RSD 0.45% ( $n=6$ )。见表 1。

**2.9 样品测定** 取牛黄至宝丸 3 批,按 2.2 项下方

法平行制备 3 份供试品溶液,根据测定出的吸光度和标准曲线,测定含量。见表 2。

表 1 胆红素回收率试验 ( $n=6$ )

No.	样品中含 量 / $\mu\text{g}$	加入量 / $\mu\text{g}$	测得值 / $\mu\text{g}$	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
1	30.6	60.3	89.7	98.01	98.74	0.45
2	30.2	61.2	90.9	99.18		
3	30.1	60.7	90.1	98.85		
4	30.7	60.8	90.6	98.52		
5	29.8	60.4	89.4	98.68		
6	30.2	61.5	91.2	99.19		

表 2 牛黄至宝丸中胆红素的含量

批号	胆红素			平均含量 $\mu\text{g}/\text{丸}$
	1	2	3	
091021	31.3	30.5	30.9	30.9
091105	31.1	31.5	30.8	31.1
091118	30.7	30.3	30.4	30.47

### 3 讨论

按方法同时制备空白样品溶液,在 400 ~800 nm 的波长范围内扫描,无紫外吸收,不干扰胆红素的含量的测定,故选择 533 nm 波长作为胆红素的含量测定的检测波长是合理的。

胆红素在可见光照射下,易氧化成蓝色产物,所以在整个实验过程中需避光操作或实验用的量瓶应为棕色瓶,确保实验在避光下进行。

牛黄至宝丸的原标准中无胆红素的含量测定,因此无法控制该品种的质量。经多次测定,牛黄至宝丸中胆红素的含量限度为不低于  $29.8 \mu\text{g}/\text{丸}$ 。通过上述方法学考察,建立了牛黄至宝丸中胆红素的含量测定方法,使其质量标准更趋严谨科学完整,并且该方法简便快捷,结果准确,重复性、回收率好,能有效控制牛黄至宝丸的质量。

### [参考文献]

- [1] 卫生部药典委员会. 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂第三册, 1991: Z3.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 558.

[责任编辑 顾雪竹]