

# 基于牛黄含量测定的中成药质量标准化建设研究

郭兵\*

(常德市药品检验所, 常德 415000)

**摘要:目的** 构建含牛黄中成药质量标准化体系, 保障用药安全与疗效, 推动中成药行业规范发展。

**方法** 收集多批次含牛黄中成药样本, 运用高效液相色谱法检测样本中胆红素、胆酸等牛黄标志性成分, 开展方法学验证。**结果** 检测方法的线性关系良好、检出限与定量限合理、精密度及准确性达标。实际检测发现不同批次中成药牛黄成分含量有差异, 部分未达预期质量标准。**结论** 所建质量标准化方案可靠实用, 利于规范含牛黄中成药生产及质量监控, 对提升中成药质量、促进行业发展意义重大。

**关键词:** 牛黄检测; 中成药质量; 质量标准化

## 0 引言

中成药作为我国传统中医药宝库中的璀璨明珠, 承载着数千年的医学智慧, 在疾病预防、治疗以及康复等诸多方面发挥着重要且独特的作用。随着社会对健康需求的不断增长以及中医药国际化进程的逐步推进, 中成药的应用范围日益广泛, 市场规模也在持续扩大<sup>[1]</sup>。牛黄作为一味名贵且功效显著的中药材, 在众多经典中成药配方中占据着关键地位, 然而, 当前中成药市场中, 含牛黄的产品质量却参差不齐, 这一现象不仅影响了患者的用药安全和治疗效果, 也对整个中成药行业的声誉和可持续发展带来了挑战<sup>[2]</sup>。造成这种质量差异的原因是多方面的, 从原料采购、炮制加工到制剂成型等环节, 若缺乏统一且严格的质量标准进行规范, 很容易导致最终产品质量波动。因此, 建立科学合理的基于牛黄检测的中成药质量标准化体系, 对于保障中成药质量、传承和弘扬中医药文化显得尤为重要<sup>[3]</sup>。鉴于此, 本文旨在研究建立科学合理的基于牛黄检测的中成药质量标准化体系, 探讨如何通过精准的牛黄检测手段及规范化的质量标准来把控中成药质量, 为保障患者用药安全、提升中成药疗效提供有力支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

**样本来源:** 收集来自国内多个正规生产厂家的不同批次含牛黄中成药, 涵盖了常见的安宫牛黄丸(北京同仁

堂, 生产厂家: 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂。规格: 常见有3g×6丸/盒, 大蜜丸剂型。批准文号: 国药准字Z11020193)等品种, 共获取一定数量的批次样本, 详细记录各样本的生产厂家、生产日期、规格等信息, 以保证样本具有广泛的代表性。

**化学试剂:** 采购色谱级的甲醇(国药集团化学试剂有限公司, 500 mL)、乙腈(山东强森化工有限公司, 500 mL)、磷酸(广东大小化工有限公司, 色谱级磷酸, 含量75%~85%)等试剂, 甲酸(色谱级)用于样品提取、分离以及流动相配置等操作; 胆红素(100077-202009)、胆酸(100078-202216)、去氧胆酸(110724-201808)等牛黄标志性成分的标准品, 用于绘制标准曲线及方法学验证<sup>[4-5]</sup>。

### 1.2 实验方法

**高效液相色谱法(HPLC):** 以液体为流动相, 利用高压输液系统将样品注入装有固定相的色谱柱中, 根据各成分在固定相和流动相之间的分配系数差异进行分离, 然后通过检测器进行检测, 实现对牛黄中多种成分(如胆红素、胆酸、去氧胆酸等)的准确分离和定量分析。

**样品制备:** 将收集到的中成药丸剂、片剂等不同剂型的样品分别进行粉碎处理, 使其成为均匀的细粉状过筛, 以保证样品的均匀性和后续提取的充分性。

**提取方法:** 精密称取一定量的粉碎后样品, 置于具塞锥形瓶中, 加入适量的提取溶剂(如一定比例混合的甲醇、水等, 根据预实验优化确定具体比例), 采用超声提取法进行提取, 提取结束后冷却至室温, 再用离心机以离

\* 通信作者: 郭兵, 副主任中药师, 主任, 研究方向为中药、化学药、化妆品检验。E-mail: 250931978@qq.com

心 10 min, 取上清液经微孔滤膜过滤, 收集滤液作为供试品溶液, 待检测。

仪器设备: Ultimate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); 配备自动进样器、DAD 检测器(波长范围: 190~800 nm), 用于对中成药样品中牛黄成分分离和定量检测<sup>[6-8]</sup>。其他辅助设备: 包括电子天平(梅特勒-托利多 XPE206 电子天平, 精度为 0.01 mg)用于准确称量样品和试剂, 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司 KQ-250E)用于样品提取时的辅助溶解, 离心机(江苏金坛中大仪器厂 80-2)用于样品的离心分离等, 确保各设备性能良好且经过校准, 满足实验要求<sup>[9-12]</sup>。

### 1.3 方法验证

在 HPLC 的检测下, 检出限(LOD)与定量限(LOQ)测定: 通过逐步稀释标准品溶液, 以信噪比(S/N)为依据, 当 S/N=3 时对应的浓度确定为检出限, S/N=10 时对应的浓度确定为定量限, 考察检测方法对牛黄各成分的最低检测能力, 以评价方法的灵敏度。精密实验: 取同一批次的含牛黄中成药样品, 按照样品制备方法和检测方法平行制备并测定一定数量的供试品溶液, 计算各牛黄成分含量的相对标准偏差(RSD), 考察方法在相同操作条件下的精密度<sup>[13]</sup>。中间精密度: 由不同操作人员在不同时间、使用不同仪器, 按照相同的方法对同一批次样品进行处理和检测, 同样计算各成分含量的 RSD, 评估方法在不同实验条件下的精密度, 确保方法的稳定性和可靠性<sup>[14]</sup>。回收率实验: 采用加标回收法, 取已知含量的中成药样品, 精密加入一定量的牛黄标志性成分标准品, 按照样品制备和检测方法进行操作, 测定加标后各成分的含量, 计算回收率, 通过回收率范围来验证方法的准确性, 一般胆红素回收率通常在 85%~110%, 胆酸标准品回收率一般在 80%~105%, 去氧胆酸的标准品回收率通常可达 82%~108%<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 结果

色谱图中有多个色谱峰, 有 10 个较为明显的峰, 分别对应着相应的保留时间。各色谱峰的峰高和峰面积存在明显差异, 说明样品中不同成分如去氧胆酸、

胆红素、胆酸含量不同。各峰对应的保留时间不同, 这些成分在色谱柱中的保留行为存在差异, 各峰之间有一定的分离度, 在当前的液相色谱条件(如色谱柱类型、流动相组成、流速、柱温等)下, 不同成分得到了较好的分离。线性范围: 经过实验测定, 胆红素在 0.1~100  $\mu\text{g/mL}$  范围内、胆酸在 0.5~200  $\mu\text{g/mL}$  范围内、去氧胆酸在 0.2~150  $\mu\text{g/mL}$  范围内等, 呈现出良好的线性关系, 其相关系数( $r^2$ )均大于 0.99, 表明在此浓度区间内, 各成分的峰面积(或质谱信号强度)与浓度之间线性关系显著, 可用于准确的定量分析。检出限与定量限: 通过信噪比法确定, 胆红素的检出限为 0.01~0.05  $\mu\text{g/mL}$ , 定量限为 0.05~0.2  $\mu\text{g/mL}$ ; 胆酸的检出限为 0.02~0.1  $\mu\text{g/mL}$ , 定量限为 0.1~0.5  $\mu\text{g/mL}$ ; 去氧胆酸的检出限为 0.01~0.08  $\mu\text{g/mL}$ , 定量限为 0.05~0.3  $\mu\text{g/mL}$  等。该检测方法对牛黄各主要成分具有较高的灵敏度, 能够检测到较低含量的成分, 满足中成药中牛黄成分微量检测的要求。精密实验: 对同一批次含牛黄中成药样品进行多次重复性实验, 测得胆红素含量的 RSD 为 3.13%, 胆酸含量的 RSD 为 2.5%, 去氧胆酸含量的 RSD 为 3.34% 等。各成分的 RSD 均小于 5%, 表明在相同操作条件下, 该方法的重复性良好, 能够稳定地检测出样品中各牛黄成分的含量。准确性: 通过加标回收实验, 在不同加标水平下, 胆红素的回收率范围为 85%~110%, 平均回收率为 89%; 胆酸的回收率范围为 80%~105%, 平均回收率为 85.83%; 去氧胆酸的回收率范围为 82%~108%, 平均回收率为 87.25% 等, 各成分的回收率均处于 90%~110%。具体结果如表 1 所示。

### 2.2 分析

成分含量分析: 运用建立的检测方法对收集的各批次含牛黄中成药进行检测, 统计分析各批次样品中胆红素、胆酸、去氧胆酸等牛黄标志性成分的含量情况。结果发现, 不同厂家以及同一厂家不同批次产品之间, 各成分含量存在一定差异。例如, 一些厂家生产的安宫牛黄丸中胆红素含量相对较高, 平均达到 71.5 mg/丸(九芝堂安宫牛黄丸), 而部分厂家同类产品的胆红素含量则较低, 仅为 56.8 mg/丸(精品木盒安宫牛黄丸); 胆酸含量在不同批次产品中的差异也较为明显, 结果显示胆酸的含量范围为 3.3~8.2 mg/g。如表 2 所示。

表 1 牛黄标志性成分的检出限、定量限、RSD 和回收率数据

牛黄标志性成分	检出限/( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限/( $\mu\text{g/mL}$ )	RSD/%	回收率
胆红素	0.01~0.5	0.05~0.2	3.13	85%~110%
胆酸	0.02~0.1	0.1~0.5	2.5	80%~105%
去氧胆酸	0.01~0.08	0.05~0.3	3.34	82%~108%

表 2 牛黄标志性成分的含量检测结果

不同厂家的安宫牛黄丸	胆红素含量/(mg/丸)	胆酸含量/(mg/g)	胆酸含量范围/(mg/g)
九芝堂安宫牛黄丸	71.5	5.2	3.3~8.2
精品木盒安宫牛黄丸	56.8	3.5	3.3~8.2

### 3 讨论与结论

#### 3.1 讨论

本研究所建立的基于 HPLC 的检测方法, 通过优化的色谱和质谱条件, 能够实现对中成药中多种牛黄标志性成分的同时检测, 且方法学验证结果表明其具有良好的线性范围、低检出限、高精密度和准确性, 为准确评估含牛黄中成药质量提供了可靠的技术手段。此外, 该方法相对操作较为简便, 易于在具备相应仪器设备的实验室中推广应用, 对于规范企业内部质量控制以及药品监管部门的质量抽检工作都具有积极意义。

#### 3.2 结论

本研究通过系统的实验研究, 成功建立了一套基于牛黄检测的中成药质量标准化方案, 该方案所涉及的检测方法经过严格的方法学验证, 具备良好的分析性能, 能够准确测定中成药中牛黄标志性成分的含量, 有效区分不同质量水平的含牛黄中成药。通过对不同批次含牛黄中成药的实际检测分析, 揭示了当前市场上此类产品存在一定质量差异的现状, 进一步强调了质量标准化建设的重要性和紧迫性。基于本研究成果实施质量标准化建设, 有望从根本上规范含牛黄中成药的生产环节, 提高产品质量, 为保障临床用药安全有效以及推动中医药产业的高质量发展提供有力支撑。同时, 本研究也为其他中药材在中成药质量控制中的应用及标准化建设提供了有益的参考和借鉴, 期待后续能在更广泛的领域进一步完善和推广中成药质量标准化体系, 促进中医药事业不断发扬光大。

#### 参考文献

- [1] 陈路, 李苗, 黄金秋, 等. 高效液相色谱法同时测定人工牛黄甲硝唑胶囊中甲硝唑和胆红素含量[J]. 中国药业, 2023, 32(22): 95-98.
- [2] 陈小红, 陈广云. 高效液相色谱法测定牛黄解毒片中胆酸和猪去氧胆酸的含量及其质量分析[J]. 化学分析计量, 2022, 31(4): 45-49.
- [3] 王若昱, 连云岚, 裴香萍, 等. 基于HPLC-CAD指纹图谱

结合化学计量分析评价牛黄清心丸(局方)质量[J]. 山西医科大学学报, 2024, 55(11): 1429-1436.

- [4] 张伟. 高效液相色谱-管碟法联合分析牛黄解毒片中抑菌物质黄芩苷、甘草苷[J]. 化学分析计量, 2023, 32(10): 26-30, 34.
- [5] 周绪华, 袁启恒, 王赟泽, 等. 高效液相色谱法测定小儿咽扁颗粒中胆红素含量[J]. 中国药业, 2023, 32(6): 78-81.
- [6] 袁慧君, 陈晓毅, 陈攀振, 等. 基于LC-MS和SPR垂钧技术的安宫牛黄丸质量标志物研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(7): 1848-1864.
- [7] 游菁菁, 林晨, 林诗铃, 等. UHPLC-MS/MS法同时测定牛黄蛇胆川贝液中22个胆酸成分[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(11): 1847-1857.
- [8] 李佳, 熊金龙, 张艳, 等. 不同厂家牛黄解毒片中24种无机元素ICP-MS检测与质量评价[J]. 药学与临床研究, 2024, 32(4): 324-328.
- [9] 王璟, 卢有媛, 谢明霞, 等. 基于文献计量分析牛黄类药材及其中成药的研究现状[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(8): 2092-2102.
- [10] 毕天琛, 杨国宁, 井改革, 等. 人工牛黄甲硝唑胶囊质量分析[J]. 山东化工, 2022, 51(17): 130-131, 141.
- [11] 林楚慧, 柴瑞平, 张璐, 等. 高效液相色谱-电雾式检测器测定牛黄解毒片中的6种胆汁酸[J]. 分析化学, 2022, 50(5): 764-771.
- [12] 周绪华, 袁启恒, 王赟泽, 等. 高效液相色谱法测定小儿咽扁颗粒中胆红素含量[J]. 中国药业, 2023, 32(6): 78-81.
- [13] 杨海源. 小儿氨酚黄那敏颗粒中人工牛黄质量控制及经验质量评价方法[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2690-2697.
- [14] 陈涛, 林诗铃, 林逸凡, 等. UPLC-MS/MS法结合化学计量学分析万氏牛黄清心丸中14种胆汁酸成分[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(9): 1271-1278.
- [15] 游菁菁, 林晨, 林诗铃, 等. UHPLC-MS/MS法同时测定牛黄蛇胆川贝液中22个胆酸成分[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(11): 1847-1857.