

板蓝根含片中靛玉红的含量测定研究

韩 光 孙茂峰 王 荔(开封 475001 河南大学药学院)

摘要 目的: 建立板蓝根含片的含量测定方法。方法: 采用薄层扫描法测定板蓝根含片中靛玉红的含量。结果: 板蓝根含片中靛玉红含量测定线性范围为 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{g}$, 平均回收率 95.6%, RSD 为 1.6%。结论: 用薄层扫描法测定板蓝根含片中靛玉红的含量是可行的, 该法有效控制了产品的质量。

关键词 板蓝根含片; 靛玉红; 薄层扫描; 含量测定

* 韩光, 女, 35 岁。1989 年毕业于河南大学化学系化学专业, 理学学士, 副教授。

Studies on content determination of indirubin for Banlangen Hanpian

Han Guang(Han G), Sun Maofeng(Sun MF), Wan Li(Wan L) (Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng 475001)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish content determination method for Banlangen Hanpian. **METHODS:** TLC method was selected to determine the content of indirubin for Banlangen Hanpian. **RESULTS:** For indirubin, the linear ranged was over 0.1~0.5 μg , the average recovery was 95.6% with RSD=1.6%. **CONCLUSION:** It is reproducible and practical to determine the content of indirubin for Banlangen Hanpian by the TLC method, the quality of the product was controlled effectively.

KEY WORDS Banlangen Hanpian, Indirubin, TLC, content determination

板蓝根含片是《中华人民共和国药典》1995年版收载的板蓝根颗粒剂型改造制成的新药。由板蓝根一味药组成。其提取工艺是将板蓝根加水煎煮2次,提取液经醇沉后浓缩成膏状。板蓝根具抗菌、解毒、抗炎和增强免疫之功效,临床上用于治疗由细菌、病毒感染引起的扁桃腺炎、腮腺炎、咽喉肿痛、传染性肝炎及小儿麻疹等。板蓝根颗粒剂无含量测定方法,使药品质量难以控制。据文献报道^[1]板蓝根含尿苷、次黄嘌呤、尿嘧啶、水杨酸、青黛酮、胡萝卜甙、1-硫氰酸-2-羟基-3-丁烯、腺甙、棕榈酸、 β -谷甾醇、蔗糖、靛蓝、靛玉红、 γ -谷甾醇、精氨酸、谷氨酸、酪氨酸、脯氨酸、缬氨酸、 γ -氨基丁酸等成分。抑菌试验表明,靛玉红、靛蓝为板蓝根的有效成分^[2]。关于中药制剂中靛玉红的含量测定,文献未见报道,我们通过实验探索,建立了以测定靛玉红含量来控制中药制剂产品质量的方法,现报道如下。

1 仪器与试剂

薄层扫描仪(TLCSANNER II,瑞士CAMAG);点样仪(Nanom at II,瑞士CAMAG);硅胶G薄层板(自制);试剂均为分析纯。

靛玉红(Indirubin)对照品(中国药品生物制品检定所)。用薄层扫描法,按归一化法测定,含量为99.1%,可用于定量。

2 供试品溶液制备方法的选择

取本品3份,每份40g,均以乙醚为溶剂,分别采用索氏、超声和萃取法提取靛玉红。索氏提取法是用乙醚200ml,提取8h;超声提取法是用250w超声波清洗机,用乙醚提取3次,每次20min,乙醚用量分别为100、50、50ml;萃取法是将样品加水150ml使溶解,用乙醚提取3次,乙醚用量分别为100、50、50ml,每次振摇20min。三份提取液分别回收乙醚,用氯仿定容到1ml,用薄层扫描法测定靛玉红的含量,结果见表1。

表1 提取方法对比结果

提取方法	索氏法	超声法	萃取法
测得量($\mu\text{g}/\text{g}$)	3.8	2.3	3.9

由表1可见,超声提取法提取不完全,索氏提取法与萃取法的提取效果相似,但索氏提取法提取时间较长,需8h,故采用乙醚萃取法的制备方法。

3 对照品溶液的制备

精密称取靛玉红对照品,加甲醇制成每1ml含0.1mg的溶液,作为对照品溶液。

4 色谱条件的确定

经过对比试验,确定选用硅胶G薄层板,以苯-氯仿-丙酮(5:4:1)为展开剂,展开后直接扫描测定。

5 扫描波长的选择

在同一块薄层板上分别点供试品溶液10 μl 与靛玉红对照品溶液4 μl ,依上法展开,在400、650nm范围内对靛玉红对照品斑点和供试品色谱中相应的斑点分别进行光谱扫描,结果二者均在539nm处有最大吸收,故选择 $\lambda=539\text{nm}$ 作为测定波长,见图1。

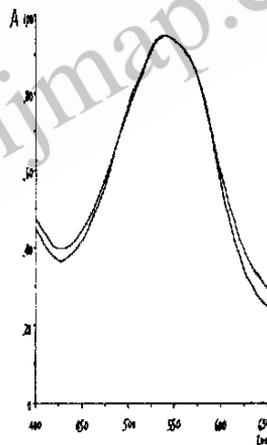


图1 靛玉红的TLC光谱图

6 工作曲线的建立

精密吸取靛玉红对照品溶液1、2、3、4、5 μl ,分别点于同一硅胶G薄层板上,展开,对色谱板进行单波长、锯齿法扫描,结果见表2。

表2 靛玉红点样量与吸收度积分值的关系

点样量(μg)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
峰面积	248.1	508.3	769.0	1062.2	1342.5

工作曲线方程为: $Y = 2742.7 X - 36.79$ $R = -0.9996$
说明在0.1~0.5 μg 范围内,点样量与斑点峰面积呈线性关系。

7 阴性对照试验

取阴性对照制剂,照“2 供试品溶液制备方法的选择”项下的方法用乙醚萃取法制备得板蓝根阴性供试液。将供试品溶液、板蓝根阴性对照溶液和靛玉红对照品溶液点于同一块硅胶 G 薄层板上,依法展开,扫描。在扫描图中,供试品与对照品在相应位置有吸收峰,而板蓝根阴性对照溶液在与靛玉红对照品相应位置无吸收峰,表明样品中无干扰靛玉红测定的成分存在,该方法专属性好,见图 2。

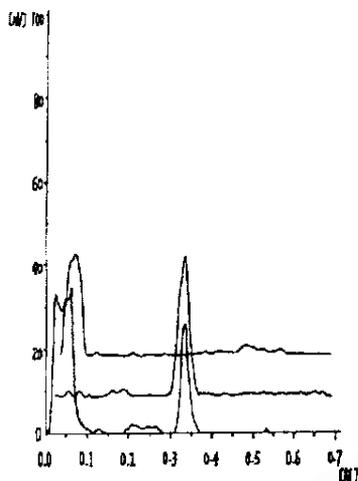


图 2 靛玉红的 TCLSC 图谱

I 阳性对照; II 对照品; III 供试品

8 稳定性试验

吸取供试液 $10\mu\text{l}$, 点于硅胶 G 薄层板上, 依法展开后测定, 并每隔一定时间重复测定, 结果见表 3。

表 3 稳定性考察结果

时间(分钟)	0	30	60	90	120
测得量(μg)	542.6	531.9	554.7	550.4	527.8

由以上测定结果可知, 测得量平均值为 541.5 , $\text{RSD}\% = 2.1\%$ 。表明稳定性较好, 可在展开后 2h 内测定。

9 精密度考察

9.1 同板精密度考察 在同一块硅胶 G 薄层板上, 点同一供试品溶液 5 个点, 依法展开, 扫描, 结果见表 4。

表 4 同板精密度考核结果

点次序	1	2	3	4	5
峰面积	436.8	413.7	431.3	429.5	431.0

由以上测定结果可知, 峰面积平均值为 428.5 , RSD 为 2.0% 。

9.2 异板精密度考察 同一供试液分别点于 5 块薄层板上, 均点 $10\mu\text{l}$, 分别测定, 结果见表 5。

表 5 异板精密度考核结果

板序号	1	2	3	4	5
测得量	534.4	526.17	521.8	480.0	493.9

由以上测定结果可知, 测得量平均值为 511.4 , RSD

为 4.5% 。

10 重现性考察

对同一批供试品, 按含量测定法, 从取样开始, 重复测定 5 次, 结果见表 6。

表 6 重现性考察结果

测定次序	1	2	3	4	5
测得量(ng)	243.9	247.1	246.2	248.1	237.3

由以上测定结果可知, 测得量平均值为 244.5 , RSD 为 1.8% 。

11 加样回收率试验

精密称取已测得靛玉红含量的同一批样品 5 份, 分别精密加入一定量的靛玉红对照品, 依法测定, 计算加样回收率, 结果见表 7。

表 7 加样回收率测定结果

序号	加样前含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率($\%$)
1	0.124	0.2	0.315	95.5
2	0.123	0.2	0.311	94.0
3	0.123	0.2	0.312	94.5
4	0.122	0.10	0.218	96.0
5	0.131	0.10	0.229	98.0

由以上试验结果可知, 平均回收率为 95.6% , RSD 为 1.6% 。

12 样品测定

对 5 批样品, 按上述方法测定靛玉红含量, 结果见表 8。

表 8 5 批样品中靛玉红含量测定结果

批号	含量(mg/g)
960927	0.002
960929	0.004
960930	0.003
961002	0.003
961003	0.004

根据以上测定结果, 规定本品每 g 中含靛玉红不得低于 0.002mg 。

13 讨论

13.1 本文所建立的含量测定方法专属性强, 重现性好。

13.2 该测定方法也可用于板蓝根药材中靛玉红的含量测定。

参考文献

- 1 黄泰康主编. 常用中药成分与药理手册. 北京: 中国医药科技出版社, 1994, 1178.
- 2 黄重兰. 板蓝根的药剂学研究进展. 基层中药杂志, 1995, 9(1): 40.

收稿日期: 2000-10-12