

高效液相色谱法测定粘膜溃疡粉中靛蓝的含量

天津市药品检验所(300070) 张兰苓* 吕归宝

摘要 以 HPLC 外标法测定粘膜溃疡粉中靛蓝的含量。方法灵敏、准确、重现性好,不受样品中其它组分干扰。

关键词 粘膜溃疡粉 靛蓝 高效液相色谱法

粘膜溃疡粉是根据验方配制而成的散剂,具有清热解毒,消炎止痛,促进溃疡愈合的作用。多年来临床反应效果良好。该品种已被收载于《天津市药品标准》1990年版,并已推荐收入卫生部部颁标准。但目前尚未建立控制本品质量的含量测定方法,为此采用高效液相色谱法测定粘膜溃疡粉中靛蓝的含量,以作为控制本品质量的方法,进一步完善质量标准。

1 仪器及药品

日本岛津 10A 型高效液相色谱仪,岛津 CR5A 数据处理机。

对照品:靛蓝化学对照品由中国药品生物制品检定所提供,含量为 92.17%。

样品:粘膜溃疡粉(天津市第五中药厂)。

试剂:甲醇,醋酸均为分析纯,水为重蒸馏水。

2 色谱条件

色谱柱:Irregular- HC_{18} (10 μm , 250 \times 4.5 mm)(天津三维公司)。理论板数按靛蓝峰计不小于 1600。

检测波长与灵敏度:检测波长 280 nm, AUFS 0.007。

流动相:甲醇-水-醋酸(68:32:0.5),流速 1 mL/min。

柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,纸速 2 mm/min,阀进样,每次 10 μL ,ATTEN=0。

3 测试液的制备

3.1 靛蓝对照溶液的制备:精密称取靛蓝对照品适量,加氯仿溶解,超声处理 1 h (50/60Hz 45 $^{\circ}\text{C}$),取出放至室温,定容至刻度,摇匀。制成每 1 mL 含 0.006 mg 的溶液。

3.2 样品溶液的制备:精密称取粘膜溃疡粉 30 mg,置 100 mL 烧瓶中,加氯仿 70 mL,加热回流 1 h,取出,放至室温,定容至刻度,摇匀。

3.3 考察回收率的测试液:分别精密称取 8 份粘膜溃疡粉样品,1~5 号样品中分别精密加入对照溶液 50 mL,氯仿 20 mL,与 6~8 号样品一起,照样品溶液的制备方法,同法制成测试液。

3.4 空白溶液的制备:依据粘膜溃疡粉的处方,按比例配制不含青黛的样品粉末,混匀,精密称取 30 mg,照样品溶液的制备方法,制成空白溶液。

4 实验结果

4.1 提取方法的比较:a)不同温度下超声振荡处理,随温度升高,提取率提高,温度影响较大,见表 1。b)相同时间,回流提取比超声振荡提取率高。见表 2。c)不同的回流时间,对提取结果也有影响,见表 3。实验结果表明,加热回流 1 h,可将样品中的靛蓝提取完全。

* Address: Zhang Lanling, Tianjin Institute for Control Drug, Tianjin

张兰苓 1986年8月毕业于天津第二医学院药理学系,药师,在天津市药品检验所中药室主要从事中药的质量分析及方法研究工作。

表 1 超声处理温度、时间对含量影响(mg/g)

	30 min	60 min	90 min
室温(18℃)	3.94	3.05	3.08
45℃	3.12	3.28	3.24
60℃	7.52	7.75	8.18

表 2 相同时间不同提取方式对含量影响(mg/g)

	30 min	60 min
回流提取	8.409	9.046
超声振荡 60℃	7.52	7.75

表 3 回流提取时间对含量影响(mg/g)

回流时间(min)	30	45	60
C _样 (mg/g)	8.409	8.865	9.046

4.2 线性关系及回归方程:靛蓝的进样量在 0.092~2.3 μg 之间,其浓度与峰面积呈良好的线性关系,数据经回归处理相关系数 $r = 0.9999$,回归方程 $Y = 359479.06X - 93.3$ 。

4.3 回收率考察:以加入法测定 5 份样品,实验结果平均回收率为 99.03%,RSD = 1.65%。

4.4 重现性考察:对同批样品分别取样,进样 5 次实验,测得结果经统计处理,其靛蓝的平均含量为 0.01331(g/g),RSD = 1.13%

4.5 稳定性考察:将靛蓝对照液放置 30 min,1.5 h,2.5 h,3.5 h,4.5 h,5 h 后,进样测定,其 $S = 170.58$,RSD = 0.55%,表明本品在 5 h 内测定,结果稳定。

4.6 进样精密度考察:将靛蓝对照液连续进样 6 次,测得峰面积,其 $S = 105.7237$,RSD = 0.35%。

4.7 样品测定结果:采取本文所述方法测定了三批粘膜溃疡粉样品,结果见表 4。

表 4 样品测定结果

批号	911205	940903	940302
含量平均值(g/g)	0.01326	0.01514	0.01456

4.8 空白试验考察:经对空白溶液与靛蓝对照溶液测定结果比较,空白溶液在相应的位置上无吸收峰,表明样品中其它组分对靛蓝测定无干扰。(见图 1)

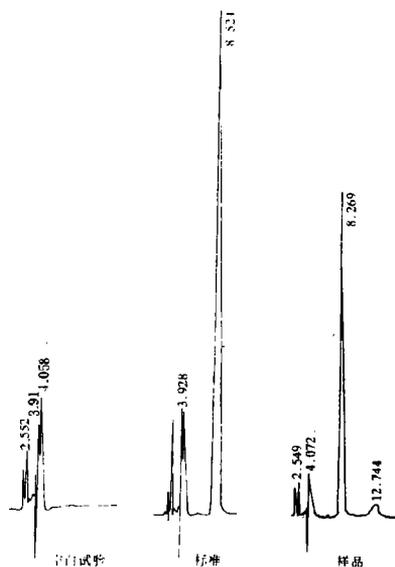


图 1 样品 HPLC 图谱

5 讨论

5.1 青黛的主要化学成分为靛蓝及靛玉红。在本法中,二者虽能很好的分离,但由于靛玉红含量很低,靛蓝与靛玉红不能同时测定,故靛玉红暂不作为控制质量的指标。

5.2 文献报道 HPLC 法测定靛蓝时,常用溶剂系统为甲醇-水(70:30)^(1,2),靛蓝峰有拖尾现象,拖尾因子为 0.76,经加入 0.5% 醋酸,使靛蓝峰成对称峰,拖尾因子为 1。

4.3 本方法具有样品预处理简单,重现性、精密度好等特点,可以作为控制质量的指标。

参考文献

- 1 《中国药典》1990 年版一部,170
- 2 李海生,等.中草药,1992,5(23):244

(1997-01-27 收稿)

安徽高校联合培训部

兽医函授及中医函授大专班常年招生

经省教委批准,第七期兽医函授大专班及第十二期中医函授大专政策继续向全国常年招生。使用全国高等院校统编教材,由专家教授辅导。详情见招生简章。凡初中以上文化程度者,可免试入学。报名费 5 元,邮至安徽合肥市五里墩邮政 9—901 信箱邱瑛收。款到寄给招生简章和入学登记表。邮编:230031,电话:(0551) 5112949。