

2.9 重现性试验:取同一批康寿灵合剂(批号 040625),按供试品溶液制备方法分别平行制备 6 份供试品溶液,进样测定,以外标法计算,结果红景天苷的质量浓度为 25.234 $\mu\text{g}/\text{mL}$,RSD 为 0.93%。

2.10 加样回收率试验:精密量取康寿灵药液(批号 040625)5 份,每份 5 mL,分别精密加入 23.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 红景天苷对照品溶液 5 mL,制备供试品溶液,依法进行测定,结果红景天苷的平均回收率为 99.3%,RSD 为 1.62% ($n=5$)。

2.11 样品测定:将不同批号的康寿灵样品制成供试品溶液,分别进样 10 μL ,记录峰面积,按外标法计算,结果见表 1。

3 讨论

以往文献报道,红景天苷的测定多用高效液相-紫外检测法,干扰成分较多。本实验采用高效液相-荧光检测器对红景天苷进行检测,调整流动相的比例为水-甲醇(70:30),在此色谱条件下,样品色谱图中红景天苷显示良好的分离,减少了复杂成分的

干扰,基线平稳,提高了分析的准确度。

表 1 康寿灵中红景天苷的测定结果 ($n=5$)

Table 1 Salidroside in Kangshouling ($n=5$)

批号	红景天苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
031012	24.759
031115	26.105
040417	24.137
040625	25.234
040624	23.752

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Kurkin V A. The chemical composition and pharmacological properties of *Rhodiola* plants [J]. *Pharm Chem J (Engl Transl)*, 1986, 20 (10): 1231-1233.
- [3] Xue K S, Wang Y Z. Determination of salidroside by HPLC with fluorescence detection [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23 (5): 333-334.
- [4] Cao Q Y, Zhang S B, Wang H D. Study of quality standard of Hongjingtian Ding [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医药学刊), 2004, 22 (1): 192-193.

HPLC 法测定小儿感冒颗粒中靛蓝

熊印华¹, 曹玉秀¹, 王晶², 张文惠*, 易剑峰¹

(1. 江西中医学院, 江西 南昌 330006; 2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

小儿感冒颗粒是《中国药典》2005 年版一部收录的中成药,由广藿香、菊花、大青叶、板蓝根等 10 味中药组成,具有疏风解表、清热解毒之功效,用于小儿感冒所致的发热重、头痛、咽喉肿痛。但现行质量标准没有制定定量测定项目。为了更好的控制药品的质量,本实验选择小儿感冒颗粒中大青叶与板蓝根共有的有效成分靛蓝作为指标。靛蓝测定的文献报道有薄层扫描法^[1]、紫外分光光度法^[2]、高效液相色谱法^[3,4]。本实验采用高效液相法测定靛蓝,并对测定方法进行了研究,为进一步完善其质量标准提供参考依据。

1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 PDA 检测器, Empower 色谱工作站。

小儿感冒颗粒由北京同仁堂生产,靛蓝对照品由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯,水

为市售纯净水,氯仿、醋酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%醋酸(65:55);体积流量:1.0 mL/min;柱温:常温;检测波长:286 nm。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取 2 mg 靛蓝对照品,置 50 mL 量瓶中,加氯仿使溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 2 mL,置于 10 mL 量瓶中,加氯仿稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液制备:取本品,研细,精密称取 1 g,置于圆底烧瓶,加入 20 mL 氯仿,回流提取 2 h,滤过,回收氯仿。用氯仿溶解残渣,滤置 10 mL 量瓶中,定容至刻度,备用。

2.4 阴性对照品溶液的制备:除大青叶、板蓝根外,按本方工艺制备样品,照供试品溶液的制备方法处

收稿日期:2005-10-26

作者简介:熊印华(1979—),男,江西中医学院 2003 级硕士研究生,主要从事药物分析。

* 通讯作者 张文惠 Tel: (0791) 7137978 E-mail: zhangWHZ@sohu.com

理,制得阴性对照溶液。

2.5 系统适应性考察:分别精密取靛蓝对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 20 μ L,注入高效液相色谱仪,记录色谱图(图 1)。可见,样品色谱峰分离度良好,阴性对照在靛蓝的峰位没有干扰。理论塔板数按靛蓝计算不低于 4 000,与杂质峰分离良好,分离度大于 1.5。

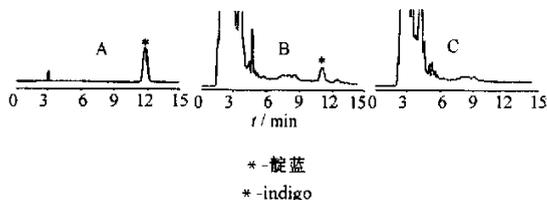


图 1 靛蓝对照品(A)、小儿感冒颗粒(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of indigo (A), Xiao'er Ganmao Granula (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系的考察:精密吸取上述靛蓝对照品溶液 2、4、8、12、16、20 μ L,在上述色谱条件下测定峰面积值。以峰面积对进样量进行回归处理,得到回归方程: $Y=8\ 572.3 X-15\ 892$, $r=0.999\ 9$,靛蓝在 0.016~0.16 μ g 与峰面积有良好的线性关系。

2.7 精密密度试验:取供试品溶液连续进样 5 次,按靛蓝的峰面积计算 RSD 为 1.2%。

2.8 重现性试验:取同一批样品,平行制备 5 份供试品溶液,测定,按靛蓝峰面积计算 RSD 为 1.9%。

2.9 稳定性试验:取供试品溶液,分别于 0、4、8、12、24 h 进样,按靛蓝的峰面积计算 RSD 为 1.85%。表明 24 h 内供试品溶液中的靛蓝稳定。

2.10 加样回收试验:精密量取 0.04 mg/mL 靛蓝对照品 0.5、1、1.5 mL 各 3 份于圆底烧瓶中,挥干,在上述 9 个圆底烧瓶分别精密加入样品约 0.5 g,制备供试品溶液,进样,计算回收率。结果平均回收率为 99.8%,RSD 为 1.6% ($n=9$)。

2.11 样品测定:取本品 3 批样品,制备供试品溶液,分别取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ L,进

样,测定峰面积,以外标法计算,结果见表 1。

表 1 小儿感冒颗粒中靛蓝的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Indigo in Xiao'er Ganmao Granula ($n=3$)

批号	靛蓝/(mg \cdot g ⁻¹)	RSD/%
20040915	0.042	1.5
20041020	0.039	1.8
20041124	0.045	1.2

3 讨论

3.1 检测波长的选择:经 PDA 检测器全波长扫描,靛蓝在 241、286 nm 有最大吸收。选择 286 nm 作为检测波长,杂质对测定没有干扰。

3.2 色谱条件的选择:试验中考察了 Diamonsil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)、Agilent Zorbax C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)、Hypersil ODS (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱;流动相考察了甲醇-水、甲醇-水-醋酸,醋酸的加入能改善峰形,提高柱效。由于小儿感冒颗粒干扰成分较多,最后选择 Agilent Zorbax C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱,甲醇-0.1% 醋酸 (65 : 35) 为流动相。

3.3 提取条件的选择:本研究以靛蓝为指标,对回流提取的氯仿的用量、提取时间、提取次数 3 个因素进行了考察,选用正交表安排试验。结果表明靛蓝的最佳提取条件是 20 倍量氯仿、提取 2 h、提取 2 次。

References:

[1] Ma S L, Li D S, Li D L, et al. Determination of indigo content in Tianshuikang Tablet by thin layer scanning [J]. West China J Pharm Sci (西北药学杂志), 2002, 7 (6): 250-251.

[2] Yao J G, Gu L H, Yang Z H, et al. Determination of indigo content in compound Qingdai Pill by one-rank derivative spectrometry [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 1994, 8 (1): 25-26.

[3] Sun L X, Tang H, Yi P, et al. Determination of indigo and indirub in the root and leaves of *Isatis indigotica* by RP-HPLC [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报) 2000, 17 (3): 191-192.

[4] Luo W W, He Y J, Wang L, et al. Determination of indigo and indirub contents in the extract of the root *Isatis indigotica* by HPLC [J]. West China J Pharm Sci (华西药学杂志), 2004, 19 (6): 455-456.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年、1976年、1979年、1985-1994年(80元/年)、1995-1997年(110元/年)、1998年(120元/年)、1999年(135元/年)、2000年(180元/年)、2001-2003年(200元/年)、2004年(220元/年)。1996年增刊(50元)、1997年增刊(45元)、1998年增刊(55元)、1999年增刊(70元)、2000年增刊(70元)、2001年增刊(70元)、2002年增刊(65元)、2003年增刊(65元)、2004年增刊(65元)、2005年增刊(65元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail:zcyzzbjb@tjipr.com