

## HPLC 测定复方南板蓝根颗粒中靛蓝和靛玉红的含量

王金鹏<sup>1</sup>, 孙翠萍<sup>1</sup>, 林海霞<sup>1</sup>, 王砚<sup>2</sup>, 王书林<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学峨眉学院, 四川 峨眉 614201; 2. 四川省食品药品检验所, 四川 成都 610036)

**[摘要]** 目的: 建立以高效液相色谱法测定复方南板蓝根颗粒中靛蓝和靛玉红含量的方法。方法: 色谱柱为 Agilent C<sub>18</sub> (4.60 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-2% 磷酸(梯度洗脱); 流速 0.9 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 289 nm, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL。结果: 靛蓝、靛玉红分别在 0.030 4 ~ 0.608 μg ( $r=0.999\ 3$ ) 和 0.0993 ~ 1.986 (g) ( $r=0.999\ 6$ ) 与峰面积积分值线性关系良好, 平均加样回收率靛蓝为 98.1% (RSD 2.31%), 靛玉红为 101.4% (RSD 2.61%)。结论: 该方法灵敏度高、简便、准确, 可用于复方南板蓝根颗粒的质量控制。

**[关键词]** HPLC; 复方南板蓝根颗粒; 靛蓝; 靛玉红; 含量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0128-03

## Determination of Indigo Blue and Indirubin Content in Compound South Baphicacanthus Granules By HPLC

WANG Jin-peng<sup>1</sup>, SUN Cui-ping<sup>1</sup>, LIN Hai-xia<sup>1</sup>, WANG Yan<sup>2</sup>, WANG Shu-lin<sup>1\*</sup>

(1. Emei College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Emei 614201, China;  
2. Sichuan Provincial Institute of Food and Drug Control, Chengdu 610036, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine indigo blue and indirubin content in Compound South Baphicacanthus Granules by HPLC. **Method:** Samples were separated by Angilent C<sub>18</sub> column (4.60 mm × 150 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of methonal-2% phosphate (by gradient elution) with flow rate at 0.9

**[收稿日期]** 20120611(015)

**[第一作者]** 王金鹏, 讲师, 从事中药质量研究, Tel:0833-5591044, E-mail:wangjin-peng@163.com

**[通讯作者]** \*王书林, 教授, 博士生导师, 从事中药质量研究, Tel:0833-5591044, E-mail:wslgap@tom.com

欧前胡素和异欧前胡素是白芷中具代表性的成分, 药理活性显著且与白芷的功能主治相关, 是评价白芷质量的适宜指标性成分。异欧前胡素纯化制备比较麻烦, 故本实验选用欧前胡素为内参物, 建立了制剂中君药白芷所含两种成分的一测多评法。

### [参考文献]

- [1] 朱晶晶, 王智民, 匡艳辉, 等. 一测多评法同步测定人参和三七药材中多种人参皂苷的含量[J]. 药学学报, 2008, 43(12): 1211.
- [2] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 一测多评法测定黄连中 5 个生物碱的含量[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(5): 390.

- [3] 朱晶晶, 王智民, 张启伟, 等. 一测多评法同时测定黄芩药材中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3229.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010: 285.
- [5] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 黄连属药用植物化学成分和质量控制的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(15): 1121.
- [6] 章军, 王跃生, 李慧, 等. HPLC 法同时测定元胡止痛分散片中延胡索乙素和欧前胡素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 12(15): 10.
- [7] 席海为, 马强, 李强, 等. HPLC 同时测定都梁滴丸中的阿魏酸、5-甲氧基补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 81.

[责任编辑 顾雪竹]

$\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , UV detection wavelength was set at 289 nm, column temperature at 35 °C, and sample size was 20  $\mu\text{L}$ . **Result:** The linear range of indigo blue was 0.030 4-0.0608  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9993$ ), and indirubin was 0.0993-1.986  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9996$ ). The average recovery of indigo blue was 98.1% (RSD 2.31%), indirubin was 101.4% (RSD 2.61%). **Conclusion:** The method is sensitive, simple, accurate, and can be used for the quality control of Compound South Baphicacanthus Granules.

[**Key words**] HPLC; Compound South Baphicacanthus Granules; indigo blue; indirubin; assaying

复方南板蓝根颗粒由南板蓝根、紫花地丁、蒲公英三味中药组成,具有消炎解毒之功效,用于腮腺炎、咽炎、乳腺炎、疮疖肿痛<sup>[1]</sup>。现行标准中仅有显色反应和南板蓝根对照药材薄层色谱鉴别项目,药典中的南板蓝根药材检验项目也只有靛蓝和靛玉红的薄层鉴别<sup>[2]</sup>,均无含量测定方法,不利于制剂的质量控制。为此,笔者根据南板蓝根为方中君药,建立了以高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中靛蓝和靛玉红含量的方法。

## 1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪,包括四元泵、2996 二极管阵列检测器、Empower2 工作站(美国 Waters 公司),BP211D 电子天平(德国赛多利斯),靛蓝对照品(中国药品生物制品检定所批号 110716-200610),靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所批号 110717-200204),复方南板蓝根颗粒(成都中医药大学峨眉学院提供,批号 20120312,20120328,20120406,规格 10 g·袋);甲醇、磷酸为色谱纯,水为超纯水,其余试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Agilent  $\text{C}_{18}$  色谱柱(150 mm × 4.60 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相甲醇(A)-2% 磷酸(B),梯度洗脱(0 min, 40% A; 35 min, 80% A) 流速 0.9  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,检测波长 289 nm,柱温 35 °C,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2 溶液的制备

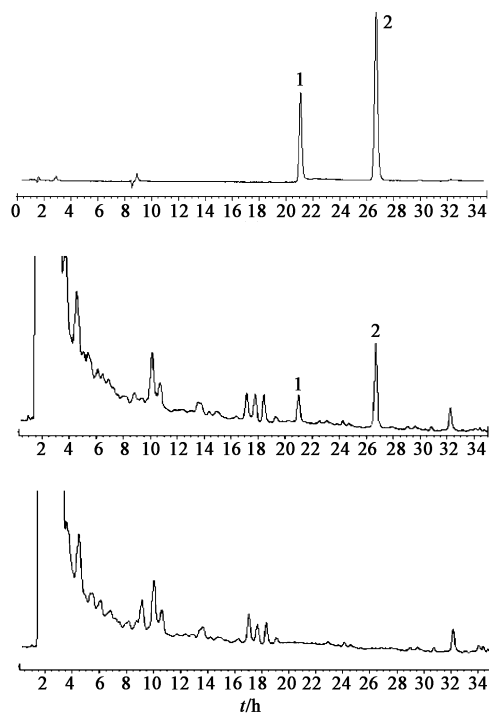
**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取经五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24 h 的靛蓝和靛玉红对照品各适量,加三氯甲烷制成每 1 mL 各含靛蓝 0.03 mg、靛玉红 0.1 mg 的混合溶液,摇匀,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取复方南板蓝根颗粒,研细,取约 10 g,精密称定,置索氏提取器中,加三氯甲烷 100 mL,加热提取 2 h。将提取液蒸干,残渣用三氯甲烷溶解,转移至 5 mL 量瓶中,稀释至刻度摇匀,0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

**2.2.3 阴性对照溶液的制备** 按处方制备不含南板蓝根的颗粒,并按 2.2.2 项下方法制备阴性对照

溶液,备用。

**2.3 系统适应性试验** 分别取对照品溶液、样品溶液、阴性对照溶液注入色谱仪,按 2.1 项下色谱条件进样。结果,阴性对照溶液在各对照品相同保留时间处未见明显的色谱峰,表明阴性对照无干扰,色谱详见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性供试品; 1. 靛蓝; 2. 靛玉红

图 1 复方南板蓝根颗粒 HPLC

**2.4 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液(靛蓝 0.0304  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 靛玉红 0.099  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 1, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{L}$ 。按 2.1 色谱条件,分别进样,以峰面积为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X),得靛蓝的回归方程:  $Y_1 = 1704.8X_1 - 34611$  ( $r=0.9993$ );靛玉红回归方程  $Y_2 = 1187.8X_2 - 7704.3$ , ( $r=0.9996$ )。结果表明,靛蓝和靛玉红的进样量分别在 0.0304 ~ 0.608  $\mu\text{g}$  和 0.0993 ~ 1.986  $\mu\text{g}$  与各自的峰面积积分值呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 准确吸取对靛蓝、靛玉红对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次,测得

靛蓝、靛玉红的峰面积积分值的相对标准差(RSD)分别为 0.82% 和 0.77%,表明仪器的精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 准确吸取 2.2.2 项下溶液 20  $\mu\text{L}$ ,分别于制备后 0,1,2,3,4,24 h,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果,靛蓝、靛玉红的峰面积积分值的 RSD 分别为 1.02%,1.31%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批号的复方南板蓝根颗粒样品 6 份,按 2.2.2 项下方法制备溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,结果平均含量分别为:靛蓝 0.002 79  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 1.44%;靛玉红 0.014 3  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 1.26%。表明本方法重复性良好。

**2.8 加样回收试验** 取已知含量的同一批样品 6 份,各约 5 g,精密称定,分别加入一定量的靛玉红、靛蓝对照品,按 2.2.2 项下方法制备溶液,并按 2.1

项下色谱条件进样测定、计算回收率。结果靛蓝平均回收率 98.1%,RSD 2.31%;靛玉红平均回收率为 101.5%,RSD 2.59%。结果见表 1,2。

**2.9 样品含量测定** 取 3 批样品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,并按 2.1 项下色谱条件测定靛蓝和靛玉红的含量,结果见表 3。

### 3 讨论

在供试品溶液制备中,分别采用了超声提取、回流热浸和索氏提取 3 种方法进行考察,结果表明索氏提取法提取率较高。

提取 30,60,120,180 min 后进行对比考察,结果显示 120 min 已经能够将目标组份提取完全。

曾就乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷等溶剂在相同时间内对目标组份的提取量进行对比,结果显示三氯甲烷提取效果最好。

表 1 靛蓝加样回收率试验(n=6)

No.	称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	5.013 2	0.013 99	0.017 16	0.031 5	102.0	98.1	2.31
2	5.000 4	0.013 95	0.017 16	0.030 4	95.9		
3	4.998 3	0.013 95	0.014 3	0.028 1	99.0		
4	5.009 9	0.013 98	0.014 3	0.027 8	96.6		
5	5.007 6	0.013 97	0.011 44	0.025 2	98.2		
6	4.997 4	0.013 94	0.011 44	0.025	96.7		

表 2 靛玉红加样回收率试验(n=6)

No.	称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	5.013 2	0.071 69	0.085 8	0.159 8	102.7	101.4	2.61
2	5.000 4	0.071 51	0.085 8	0.158 3	101.2		
3	4.998 3	0.071 48	0.071 5	0.146 5	104.9		
4	5.009 9	0.071 64	0.071 5	0.142 1	98.5		
5	5.007 6	0.071 61	0.057 2	0.127 8	98.2		
6	4.997 4	0.071 46	0.057 2	0.130 4	103.0		

表 3 样品中 2 种成分的含量测定结果(n=3)

样品批号	含量/(mg/袋)	
	靛蓝	靛玉红
20120312	0.030 1	0.138 2
20120328	0.027 1	0.145 3
20120406	0.028 4	0.143 2

通过甲醇-水(70:30)、甲醇-水(57:43)、甲醇-0.1%磷酸(57:43)、甲醇-0.2%磷酸(57:43)作流动相考察,结果表明甲醇-0.2%磷酸为流动相,梯度

洗脱,靛蓝、靛玉红保留时间合适,峰形较好。

综上所述,本方法灵敏度高、简便、准确,可用于复方南板蓝根颗粒的质量控制。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第 5 册[S]. 1992:108.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:229.

[责任编辑 顾雪竹]