

青黛超临界提取物中靛蓝和靛玉红的含量测定研究

姚文, 王晓波, 袭荣刚(解放军第210医院药剂科, 大连 116021)

摘要 目的: 本文采用磺化-紫外分光光度法及一阶导数紫外分光光度法, 对青黛药材及青黛超临界提取物进行含量测定。方法: 样品经磺化反应后, 用零阶光谱在623nm波长处测定靛蓝的含量, 用一阶导数紫外分光光度法在482nm波长处测定靛玉红的含量。结果: 靛蓝的线性范围为 $1.14 \sim 5.32 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, $r = 0.9999$, 平均回收率为101.06%, RSD 为1.27%, 靛玉红的线性范围为 $0.52 \sim 5.2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, $r = 0.9999$, 平均回收率为101.80%, RSD 为0.75%, 放置8h对含量测定无影响。结论: 测定数批青黛药材及青黛超临界提取物样品, 其靛蓝含量测定与药典法测定结果无显著差别。

关键词 靛蓝; 靛玉红; 紫外分光光度法; 一阶导数紫外分光光度法; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2002)05-0291-03

Studies on the determination of indigotin and indirubin contents in *Indigo Naturalis* with Supercritical Fluid Extraction

YAO Wen, WANG Xiao-bo, XI Rong-gang (Department of Pharmacy, the 210th Hospital of PLA, Dalian 116021, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine the contents of indigotin and indirubin in *Indigo Naturalis* and the extract of *Indigo Naturalis* with supercritical fluid extraction. **METHODS:** The indirubin content was determined with sulfonated reaction-first order derivative-UV spectrophotometry; the indigotin content was determined with sulfonated reaction-UV spectrophotometry. **RESULTS:** The average recovery rate of indirubin was 101.80%, $RSD = 0.75\%$, and the average recovery rate of indigotin was 101.06%, $RSD = 1.27\%$. **CONCLUSION:** This method is simple and repeatable, and can be used as the quality control method for the *Indigo Naturalis* and the extract of *Indigo Naturalis* with supercritical fluid extraction.

KEY WORDS indigotin; indirubin; UV spectrophotometry; first order derivative UV spectrophotometry; contents determination

青黛为蓼蓝、菘蓝、马蓝等植物的茎叶经浸泡腐烂, 用石灰提取加工而成。青黛作为一种有明确药理作用的原药, 在许多成药中被广泛利用。我院治疗白血病制剂复方黄黛片中含有青黛。已知青黛中主要成分为靛蓝(indigotin)和靛玉红(indirubin)。大量研究证实了靛玉红是青黛的主要生物活性成分, 为了对青黛超临界的流体萃取工艺进行优选和评价, 并对青黛超临界提取物制订质量控制的标准, 故对这两种成分的含量测定方法作了研究。

青黛中靛玉红的测定方法有柱层层析分光光度法^[1]、直接比色测定法^[2]、薄层扫描法^[3]、HPLC法^[4]等, 这些测定方法都各有优缺点。本研究用一阶导数法测定靛玉红的含量, 使混合物不经分离直接测定, 具有快速、准确、其它成分影响小的特点。

1 仪器与试剂

V-560型紫外分光光度仪(日本JASCO)。靛蓝、靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所), 青黛超临界流体萃取样品(本院), 硫酸(分析纯)、超纯水。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取 105°C 下干燥至恒重的靛蓝及靛玉红对照品各20mg, 按照中国药典(2000年版)一部青黛项下的含量测定方法^[5], 加浓硫酸 80°C 磺化1h, 过滤, 制成每1ml含靛蓝 $10\mu\text{g}$ 和含靛玉红 $10\mu\text{g}$ 的对照品溶液。

2.2 零阶及一阶导数光谱的测定

取浓度为 $4\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的靛蓝及靛玉红的标准溶

液,以水为空白,在 200~800nm 波长范围测定零阶及一阶导数光谱,分别见图 1、图 2,选择零阶光谱的 623nm 为靛蓝的测定波长,选择一阶导数光谱的 482nm 为靛玉红的测定波长。

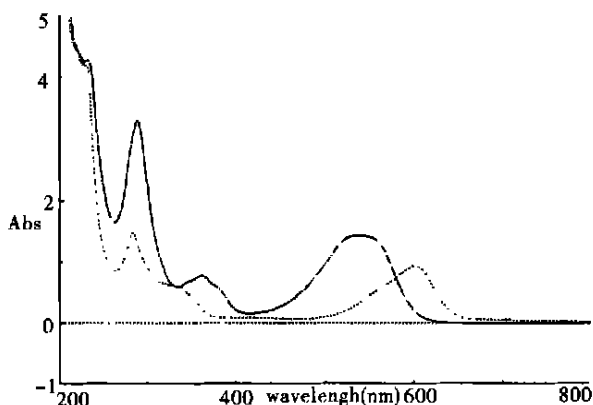


图 1 靛蓝、靛玉红光谱图
——靛蓝 ——靛玉红

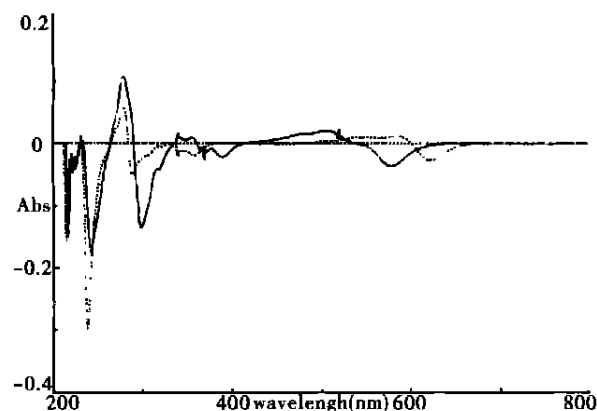


图 2 靛蓝、靛玉红一阶导数光谱图
——靛蓝 ——靛玉红

2.3 线性关系及标准曲线

以水为空白,绘制系列标准溶液在 450~650nm 波长范围内零阶和一阶导数光谱图,读取零阶光谱 623nm 波长处的吸收度值 A,以吸收度 A 为纵坐标,以浓度 C 为横坐标,绘制靛蓝的标准曲线;读取一阶导数光谱 482nm 波长处对应的振幅值 D,以振幅值 D 为纵坐标,以浓度 C 为横坐标,绘制靛玉红的标准曲线,回归方程分别为:靛蓝 $Y = 51904.9819X - 0.002442$ ($r = 0.9999$, $n = 6$);靛玉红 $Y = 394.3569X - 2.86067 \times 10^{-5}$ ($r = 0.9999$, $n = 6$) 结果表明,靛蓝溶液在 $1 \sim 5.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内,吸收度与浓度呈良好的线性关系;靛玉红溶液在 $0.52 \sim 5.2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内,振幅值与浓度呈良好的线性关系。

2.4 供试品溶液的制备

精密称取样品适量,按照对照品溶液的制备,加浓硫酸 80°C 磺化 1 小时,过滤、稀释,使样品中靛蓝、靛玉红的含量在线性范围内,作为供试品溶液。

2.5 回收率试验

精密称取已知含量的同一批号样品 4 份,精密加入靛蓝和靛玉红对照品,按供试品溶液的制备方法制备、测定,结果见表 1。

2.6 精密度试验

同一供试品溶液重复测定 7 次,测得靛蓝吸收度值的 RSD 为 0.11%;靛玉红一阶导数振幅值的 RSD 为 0.53%。

2.7 稳定性试验

取样品溶液(批号 930221)在 0、0.5、1、2、3、6、8h 分别测定,7 次测定靛蓝和靛玉红含量的 RSD 分别为 0.36% 和 1.77%,表明供试品溶液较稳定。

表 1 回收率测定结果

样品	样品中含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
靛蓝	7.94	5.9	13.81	99.49	101.06	1.27
	8.69	5.1	13.85	101.18		
	6.57	4.3	10.91	100.93		
	7.90	3.8	11.80	102.63		
靛玉红	0.53	4.5	5.07	100.89	101.80	0.75
	0.58	4.9	5.60	102.45		
	0.44	6.2	6.73	101.45		
	0.51	3.3	3.89	102.42		

2.8 样品含量测定

测定供试品溶液的吸收度及振幅值,代入回归方程计算出靛蓝及靛玉红的含量,结果见表 2。

3 讨论

样品提取方法的选择 中国药典 2000 年版一部

对青黛药材以磺化一分光光度法测定其中的靛蓝的含量,而本研究中对青黛的超临界工艺进行优化时,是以青黛中具有抗肿瘤活性的靛玉红为主的,为此我们沿用了药典中对样品的磺化反应,此法比氯仿回流提取^[4,6]具有省时、提取效果好、溶液的稳定

性好等优点。

表 2 样品含量测定结果

批号	靛蓝含量 (mg·g ⁻¹)	靛玉红含量 (mg·g ⁻¹)
样品 1	16.0	107.4
样品 2	6.2	52.9
样品 3	4.8	31.0
样品 4	2.1	370.3
青黛(930221, 四川)	41.8	2.4
青黛(920403, 四川)	14.3	1.4
青黛(010313, 福建)	22.7	2.1

测定波长的选择: 药典法选择 610nm 波长测定靛蓝, 通过扫描发现: 在 610nm 波长处, 靛玉红也有吸收, 这在测定青黛药材时可以采用。其原因为青黛药材中, 靛蓝与靛玉红含量相差较大(约 10 倍), 在靛蓝测定的线性范围内靛玉红的影响可忽略, 而在超临界提取中, 是以靛玉红为主要成分, 两者之间的差距缩小, 因此, 用药典法势必产生较大误差, 故

而选择 623nm 波长测定靛蓝的含量, 而在此, 靛玉红几乎没有吸收。一阶导数光谱中, 在 482nm 波长处, 靛蓝的振幅几乎为零, 因此选择 482nm 为靛玉红的测定波长。

样品的预处理: 由于水分对磺化反应的影响, 因此, 样品一定要先干燥, 磺化反应过程中, 要不时搅拌, 以使反应完全。

参考文献:

[1] 邓伯林. 柱层层析分光光度法测定中药青黛中靛蓝与靛玉红的含量[J]. 中草药, 1981, 12(6): 11.
 [2] 邓伯林. 青黛中靛蓝与靛玉红直接比色测定法[J]. 中草药, 1986, 17(4): 19.
 [3] 梁文法, 闭业范, 陈 通, 等. 薄层扫描法测定松蓝根和叶中靛玉红与靛蓝的含量[J]. 中草药, 1990, 21(4): 11.
 [4] 曹 红, 刘 云. 高效液相色谱法测定复方青黛片中靛蓝和靛玉红的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(3): 195.
 [5] 中国药典[S]. 一部. 2000 年版: 158.

收稿日期: 2002- 06- 10

罗红霉素电子药膜含量测定方法的研究

王晓波, 王敬国, 袁荣刚等(解放军 210 医院 大连 116021)

摘要 目的: 建立测定罗红霉素电子药膜中主药含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 YWG-C₁₈柱, 流动相为乙腈-甲醇-0.5%乙酸铵(100:80:60), 检测波长为 235 nm。结果: 精密性及稳定性均良好, 在 0.3~1.7 mg·ml⁻¹ 范围内, 峰面积与浓度(mg·ml⁻¹) 呈良好的线性关系, r=0.9998, 平均回收率为 99.23%, RSD 为 0.84%。n=5。结论: 本方法简便、专属、重现性好, 可用于罗红霉素电子药膜剂的含量测定。

关键词 电子药膜; 罗红霉素; HPLC; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2002)05- 0293- 03

Studies on assay of roxithromycin in electron medicinal membrane of roxithromycin

Wang Xiaobo, Wang Jingguo, Xi Ronggang etc. (210 Hospital of PLA, Dalian 116021)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for assay of roxithromycin in electron medicinal membrane of roxithromycin. **METHODS:** To use a HPLC method by YWG-C₁₈column. The mobile phase was a mixture of acetonitrile-methanol-0.5% ammonium acetate (100:80:60), with the detection wavelength at 235 nm. **RESULTS:** Precision and stability were fine. The linear correlation was observed from the concentrations of 0.3 to 1.7mg·ml⁻¹(r=0.9998). The average recovery was 99.23%. Resolution between roxithromycin and other peaks met the requirements. **CONCLUSION:** The method is convenient, selective and reproducible.

KEY WORDS electron medicinal membrane; roxithromycin; HPLC; content determination