

## · 药物分析 ·

## HPLC法测定乌藤镇痛胶囊中的青藤碱含量

邱财荣<sup>1</sup>, 李新田<sup>1</sup>, 林 昱<sup>1</sup>, 陈崇尚<sup>2</sup> (1. 解放军第 3 医院药剂科, 陕西 宝鸡 721004; 2. 陕西神珠医药科技制品有限公司, 陕西 西安 710054)

**[摘要]** 目的 建立高效液相色谱法测定乌藤镇痛胶囊中青藤碱含量的方法。方法 采用色谱柱: Shim-packCLC-ODS-C<sub>18</sub>柱 (150 mm ×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 - 磷酸盐缓冲液 (5 mmol/L 磷酸氢二钠溶液, 以 5 mmol/L 磷酸二氢钠调节 pH 值至 8.0, 再以 1% 三乙胺溶液调节 pH 至 9.0) (55: 45); 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 262 nm。结果 青藤碱在 0.92 ~ 4.60 μg 之间线性关系较好, 相关系数  $r=0.9996$ 。加样回收率为 99.21% ( $RSD$  为 0.61%)。结论 本方法灵敏、准确、快速, 可用于乌藤镇痛胶囊中青藤碱含量测定及质量控制。

**[关键词]** 乌藤镇痛胶囊; HPLC; 青藤碱; 含量测定

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)01-0040-03

## Determination of sinomenine in Wuten Zhentong capsules by HPLC

Q U Cai-rong<sup>1</sup>, L I X in-tian<sup>1</sup>, L N Yu<sup>1</sup>, CHEN Chong-shang<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy, No. 3 Hospital of PLA, Baoji 721004, China; 2. Shanxi Sheng zhu Phar. Sci and Tech Co. Ltd., Xi'an 710054, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish an HPLC method for determining the content of sinomenine in Wuten Zhentong capsule. **Methods** The sample was analyzed on a Shim-pack CLC-ODS-C<sub>18</sub> (150 mm ×4.6 mm, 5 μm) column using methanol-phosphate buffer (5 mmol/L sodium hydrogen phosphate solution, adjust pH to 8.0 using 5 mmol/L sodium hypophosphite solution and then adjust pH to 9.0 using 1% triethylamine solution) (55: 45) as mobile phase at 25 ℃. The detection wavelength was 262 nm and flow rate 1.0 ml/min. **Results** Good linearity was shown within the range of 0.92 ~ 4.60 μg, the correlation coefficient ( $r$ ) was 0.9996, the average recovery rate was 99.21% with  $RSD$  of 0.61% ( $n=6$ ). **Conclusion** The results demonstrated that the analytical methods used for the content determination were reproducible, feasible, convenient and easily performable, which can be adopted as the standard methods for the quality control of the Wuten Zhentong capsule.

**[Key words]** Wuten Zhentong capsule; HPLC; sinomenine; Assay

乌藤镇痛胶囊是我院临床长期使用的验方, 由制川乌、青风藤、当归、红花等组成, 具有活血化瘀、祛风除湿、通窍止痛、舒筋活络之功效, 临床上用于治疗风湿痹病引起的疼痛, 具有显著疗效<sup>[1]</sup>。青藤碱是组方中青风藤的有效成分, 具有镇痛、镇静和局部麻醉等作用<sup>[2]</sup>。本文参照《中国药典》2005年版一部青风藤药材项下的含量测定方法<sup>[3]</sup>, 采用高效液相色谱法测定样品中青藤碱的含量, 该方法快捷、灵敏、准确, 且具有很好的重复性, 为制定乌藤镇痛胶囊的质量标准提供依据。

## 1 实验材料

1.1 仪器与试剂 LC-10A 高效液相色谱仪 (日本岛津); BP211D 型电子天平 (十万分之一, 德国 Sartorius 公司); SK5200LH 型超声仪 (上海科技超声仪器

有限公司)。青藤碱对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110774-200507 含量测定用); 乌藤镇痛胶囊 (自制, 0.2 g 粒, 批号: 20071108, 20080308, 20080808)。

1.2 色谱条件 色谱柱为 Shim-packCLC-ODS-C<sub>18</sub> 柱 (150 mm ×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 - 磷酸盐缓冲液 (5 mmol/L 磷酸氢二钠溶液, 以 5 mmol/L 磷酸二氢钠调节 pH 值至 8.0, 再以 1% 三乙胺溶液调节 pH 至 9.0) (55: 45); 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 262 nm, 进样量 10 μl。

## 2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取经干燥至恒重的青藤碱对照品 25 mg, 置 50 ml 量瓶中, 加甲醇制成每 1 ml 中含 0.5 mg 的溶液作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物约 0.5 g, 精密称定, 至 25 mL 容量瓶中, 加入甲醇约 20 ml, 密塞, 超声处理 (功率 250 w, 频率 20 kHz) 20 min, 放

冷,用甲醇定容至 25 ml,摇匀,取上清液用微孔滤膜 (0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

**2.3 空白对照溶液的制备** 取按处方比例制备但不含青藤藤的自制空白对照制剂,再按 2.2项下的制备方法制成空白对照样品溶液。

**2.4 线性关系考察** 精密吸取 2.1项下的对照品溶液 2、4、6、8、10 ml置 10 ml量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,得到系列标准溶液。分别进样 10 μl,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值对进样浓度进行回归处理,结果表明,青藤碱在 0.92 ~ 4.60 μg范围内呈现良好的线性关系。回归方程为:  $Y = 0.084 + 5.517 \times 10^{-6} X$ ,  $r = 0.9996$ 。

**2.5 重复性试验** 照 2.2项下,对同一批号样品含量测定重复 6次,青藤碱的平均标示百分含量为 98.76%, $RSD$ 为 0.7%,表明方法的重复性较好。

**2.6 精密度试验** 精密吸取 2.2项下供试品溶液

10 μl,注入高效液相色谱仪,重复进样 6次,测定青藤碱的色谱峰面积。结果青藤碱峰面积的  $RSD$ 为 0.4%,表明方法的精密度良好。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取 2.2项下供试品溶液 10 μl,注入高效液相色谱仪,按 0、2、4、8、12、24 h间隔进样,测得青藤碱的含量,以考察其稳定性。 $RSD$ 值为 1.20%,表明供试品溶液至少在 24 h内是稳定的。

**2.8 阴性对照试验** 精密吸取空白样品溶液、供试品溶液和对照品溶液各 10 μl,分别注入高效液相色谱仪中测定。结果在空白样品色谱图中,在与青藤碱对照品峰相同处无吸收峰。结果见色谱图 1。

**2.9 回收率试验** 精密称定已知含量的样品 0.2 g (批号:080808)共 6份,分别精密加入适量的青藤碱对照品,按 2.2项下方法制备,并依法分别进行测定,计算青藤碱的回收率。结果平均回收率为 99.21%, $RSD$ 为 0.61%。结果见表 1。

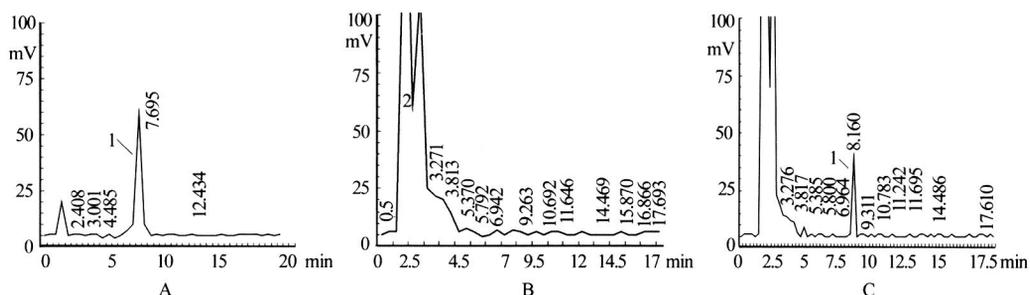


图 1 对照品、样品和空白对照品色谱图

A对照品;B样品空白对照;C乌藤镇痛胶囊;峰 1青藤碱

表 1 青藤碱的回收率测定结果 (n=6)

样品编号	加入量 (mg)	样品含量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.425 0	0.162 1	0.584 3	99.53		
2	0.425 0	0.162 1	0.579 8	98.75		
3	0.510 0	0.162 1	0.671 7	99.94	99.21	0.61
4	0.510 0	0.162 1	0.670 6	99.78		
5	0.590 0	0.162 1	0.736 5	97.93		
6	0.590 0	0.162 1	0.747 0	99.32		

**2.10 样品测定** 取 3批乌藤镇痛胶囊,分别按照 2.2项下方法制备,按上述色谱条件分别进行测定,计算青藤碱的含量。结果见表 2。

表 2 乌藤镇痛胶囊样品含量测定结果 (n=6)

样品(批号)	含量 (mg/粒)	RSD (%)
080808	0.162 1	0.42
080308	0.160 2	0.87
071108	0.160 4	0.54

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的选择**参照药典和相关文献<sup>[4-6]</sup>中测定青藤碱的色谱条件,在实验过程中我们先后采用多种流动相分离青藤碱,经反复实验,确定用甲醇-磷酸盐缓冲液 (5 mmol/L磷酸氢二钠溶液,以 5 mmol/L磷酸二氢钠调节 pH值至 8.0,再以 1%三乙胺溶液调节 pH至 9.0) (55:45),在此条件下青藤碱色谱峰形较理想,而且阴性对照实验无干扰。本实验流动相简单,易于冲洗。

**3.2 在提取方法的选择中**,采取超声提取和水浴回流提取两种方法作对比,二者测得的结果没有明显的差异,但从简便和节能方面考虑,采用超声处理法提取。

**3.3 在研究制定本品质量标准的同时**,建立了青藤藤原料药中青藤碱的含量测定方法,成品中青藤碱含量测定方法的色谱条件亦适用于生药中青藤碱的含量测定。

3.4 本实验采用高效液相色谱法建立了乌藤镇痛胶囊的定量分析方法,实验结果准确可靠,可操作性强,符合中国药典的要求,为乌藤镇痛胶囊的质量控制和稳定性考察提供了依据。

**【参考文献】**

[1] 李新田,林 昱,邱财荣,等. 乌藤镇痛胶囊的制备及临床疗效观察 [J]. 内蒙古中医药杂志, 2007, 26(7): 21.  
 [2] 严 华,马双成. RP-HPLC法测定青风藤中青藤碱的含量

[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(2): 201.  
 [3] 中国药典 2005年版. 一部 [S]. 2005: 135.  
 [4] 陈伟启,李晓燕. 高效液相色谱法测定风痛宁片中青藤碱含量 [J]. 中成药, 2003, 25(5): 425.  
 [5] 常新全,李瑞峰,康 静. HPLC测定秦芪消痹颗粒中的青藤碱含量 [J]. 中成药, 2004, 26(10): 23.  
 [6] 陈 勇,邓家刚,王 勤. 抗痛风颗粒中青藤碱 TLC鉴别与青藤碱的含量测定 [J]. 中国实验方剂学, 2007, 13(6): 11.

[收稿日期] 2009-06-22

[修回日期] 2009-11-08

## 反相高效液相色谱法测定芩蓝滴鼻液中黄芩苷含量

陈维中 (南京军区福州总医院,福建 福州 350025)

**【摘要】** 目的 建立反相高效液相色谱法分离测定芩蓝滴鼻液中黄芩苷的含量。方法:采用 Gemini C<sub>18</sub> 110A (4.60 mm ×250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液 (50:50);流速为 0.8 ml/min;检测波长为 277 nm;进样量 10 μl。结果 黄芩苷浓度在 709.4 ~ 7094.0 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系, r=0.9999;平均回收率为 99.6%, RSD 为 1.33% (n=9)。结论 本方法简便、准确、专属性强,可用于测定芩蓝滴鼻液中黄芩苷的含量。

**【关键词】** 反相高效液相色谱法;芩蓝滴鼻液;黄芩苷;含量

**【中图分类号】** R927 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1006-0111(2010)01-0042-03

## Quantitative analysis of baicalin in Qinlan nasal drops by RP-HPLC

CHEN Wei-zhong (Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjin Military Region, Fuzhou 350025, China)

**【Abstract】 Objective** To develop RP-HPLC method for the determination of baicalin in Qinlan nasal drops. **Methods** The chromatographic analysis was performed on Gemini C<sub>18</sub> 110A (4.60 mm ×250 mm, 5 μm) column. The mobile phase was consisted of methanol-0.2% phosphoric acid solution (50:50). The flow rate was 0.8 ml/min. The detection wavelength was set at 277 nm, with injection volume 10 μl. **Results** A good linearity was obtained over the range of 709.4 ~ 7094.0 μg/ml (r=0.9999). The average recovery of baicalin was 99.6%, with RSD 1.33% (n=9). **Conclusion** The method is simple, accurate, specific and will be used for the quality control of Qinlan nasal drops.

**【Key words】** RP-HPLC; Qinlan nasal drops; baicalin; content

芩蓝滴鼻液是由黄芩、板蓝根、连翘和柴胡等十三味中药提取制成。具有清热解毒,疏风解表,宣肺通窍的功效,通过鼻黏膜给药治疗感冒发热、咳嗽流涕、咽喉肿痛,适用于幼儿和部分不适宜口服给药的患者。黄芩是本品中的主药,黄芩苷为黄芩的主要抗菌有效成分<sup>[1]</sup>,笔者用高效液相色谱法测定了芩蓝滴鼻液中黄芩苷的含量,方法可行,结果满意。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-2010C HT型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); MILLIPORE 纯水器; Cary 100 分光光

度计 (VARIAN 公司)。

1.2 试剂 黄芩苷对照品 (批号: 110715-200514, 中国药品生物制品检定所); 芩蓝滴鼻液 (批号 20051109, 20060121, 20060325 本院制剂); 甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Gemini 5 μ C<sub>18</sub> 110A (4.60 mm ×250 mm, 5 μm) (美国 phenomenex 公司); 流动相: 甲醇-0.2%磷酸溶液 (50:50); 流速: 0.8 ml/min; 检测波长为 277 nm; 进样量 10 μl。理论板数按黄芩苷峰计为 10611, 黄芩苷主峰与相邻峰的分度大于 1.5, 符合要求。

2.2 检测波长的选择 精密称取黄芩苷对照品适

[作者简介] 陈维中 (1969-), 男, 副主任药师. Tel: (0591) 24937091, E-mail: cwzhongfz@sina.com.