

HPLC 测定青参胶囊中青藤碱的含量

何法霖¹ 柏冬² 郑玉胜² 周玥³ 刘路⁴ 董海鹏⁵

(1 卫生部北京医院,北京东单大华路1号,100730; 2 北京中医药大学; 3 同仁堂天然药物有限公司; 4 世界中医药学会联合会; 5 国家知识产权局专利局)

关键词 青参胶囊;青藤碱

青参胶囊由青风藤、黄连、苦参等5味中药组成,可以祛风湿,通经络,临床上用于治疗风湿痹痛,关节肿胀,麻痺瘙痒,具有很好的疗效。我们建立了高效液相色谱法测定青参胶囊中青藤碱含量的方法,报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1200 系列高效液相色谱仪,包括在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Agilent ChemStation 工作站;梅特勒 AE240 电子分析天平;超纯水发生器(Millipore)。

1.2 试剂 青藤碱对照品(110704-200318,供含量测定用)由中国药品生物制品检定所提供;青参胶囊(批号:20081201,20081202,20081203);乙腈(色谱纯,飞世尔科技)、重蒸水、其他试剂为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Waters Nova-Pak C18 柱(250mm × 3.9mm, 4 μ m);流动相为 0.033mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈(90:10);流速 1.0mL/min;检测波长 262nm。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 取青藤碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 mL 含青藤碱 0.0735mg 的溶液,作为对照品溶液。

3.2 供试品溶液的制备 取供试品 0.5g,精密称定,精密加入甲醇 50mL,称定重量,超声提取 30min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,作为供试品溶液。

3.3 线性关系考察 取青藤碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成含青藤碱 0.735mg/mL 的对照品贮备液,精密吸取贮备液 1、1.2、1.6、2.0、2.5、3.0、4.0mL 至 25mL 量瓶中,加甲醇定容。分别精密量取上述溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪,以峰面积 Y 为纵坐标,进样浓度 X(μ g/mL)为横坐标,绘制标准曲线,得青藤碱的线性回归方程为 $Y = 825.26X + 10.31$ ($r = 0.9997$, $n = 6$),表明青藤碱进样量在 0.294 ~ 1.176 μ g 范围内呈良好的线性关系。

3.4 精密度试验 分别精密吸取青藤碱对照品溶液 10 μ L,连续重复进样 6 次,峰面积的 RSD 为 0.21% ($n = 6$),表明本方法精密度良好。

3.5 重现性试验 取同一生产批号(20081201)样品,按照供试品溶液制备方法和上述色谱条件平行测定 6 次,得到青藤碱平均含量为 7.05mg/g, RSD = 0.44% ($n = 6$),表明本方法重现性良好。

3.6 稳定性试验 取同一生产批号(20081201)的供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12 及 24h 进样 10 μ L,测定峰面积,青藤碱平均含量为 7.03mg/g, RSD = 0.37% ($n = 6$),表明样品溶液放置 24h 内稳定。

3.7 回收率试验 取已知含量的同一生产批号(20081201)的样品,采用加样回收试验,分别以样品量的 80%、100%、120% 的比例精密加入青藤碱对照品,按样品测定项下的方法测定含量,平均回收率为 99.38%, RSD = 0.46% ($n = 9$),结果见表 1。

表 1 青藤碱加样回收率结果($n = 9$)

编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	3.5231	2.7978	6.3122	99.69	99.38	0.46
2	3.5445	2.7978	6.3444	100.08		
3	3.5042	2.7978	6.2798	99.21		
4	3.5293	3.4973	6.9982	99.19		
5	3.5019	3.4973	6.9786	99.41		
6	3.5295	3.4973	7.0032	99.33		
7	3.5453	4.1968	7.6750	98.40		
8	3.5143	4.1968	7.6959	99.64		
9	3.5268	4.1968	7.7012	99.47		

3.8 样品含量测定结果 见表 2。

表 2 样品含量测定结果

批号	称样量	含量 mg/g
20081201	0.5174	7.03
20081202	0.5074	7.06
20081203	0.5138	6.97

3.9 干扰试验 模拟处方制备不含青风藤的阴性样品,按供试品溶液制备方法配制 1 份阴性对照溶液。分别吸取青藤碱对照品溶液,青参胶囊供试品溶液和阴性对照溶液,按上述测定方法进行测定,结果表明其他各味药材不干扰青藤碱的测定。

RP-HPLC法测定老年咳喘片中补骨脂素和异补骨脂素的含量

章建明¹ 莫文电² 谭忠谋²

(1 广西河池市人民医院,广西河池市新建路91号,547000; 2 广西河池药检所)

关键词 老年咳喘片;补骨脂素;异补骨脂素

老年咳喘片由黄芪、白术、防风、甘草、黄精、淫羊藿、补骨脂制成,有滋阴壮阳、扶正固本的功效,可以提高免疫力,促进病体康复,用于老年慢性支气管炎及各种体虚症。补骨脂含香豆精类、黄酮类、单萜酚类以及挥发油、皂苷、多糖、类脂等成分。补骨脂素和异补骨脂素为香豆精类,在补骨脂中含量较高,故选取其作为定量指标控制本品的质量,采用高效液相色谱法测定其含量。

1 仪器、试剂与样品

LC-10AT_{VP}高效液相色谱仪;SPD-10AVP紫外检测器;威玛龙色谱数据工作站。

补骨脂素、异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用);老年咳喘片及缺补骨脂的阴性对照样品由某药厂提供;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶柱(Kromasil C18 5 μ m; 250mm \times 4.6mm),流动相:甲醇-水(55:45);流速:1.0mL/min;检测波长:246nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L;理论板数按补骨脂素、异补骨脂素峰计算应不少于4000,分离度应不小于1.5。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量,加甲醇制成每1mL各含20 μ g的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品10片,除去包衣,精密称定,研细,取粉末约2g,精密称定,置具塞锥形瓶

中,精密加入甲醇20mL,密塞,称定重量,超声处理(功率160W,频率50kHz)40min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,静置,取上清液滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 依照“2.3项”下方法制备阴性对照溶液。

2.5 空白试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μ L,分别注入液相色谱仪,在“2.1”色谱条件下测定,在老年咳喘片供试品色谱图中,在与对照品色谱相应位置(补骨脂素 tR = 12.1min,异补骨脂素 tR = 14.5min)上,确认了补骨脂素和异补骨脂素的吸收峰,而阴性对照溶液无补骨脂素和异补骨脂素的吸收峰,故认为无干扰。

2.6 线性关系考察试验 取补骨脂素对照品约9.4mg,异补骨脂素对照品约9.2mg,精密称定,置同一100mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。精密吸取以上对照品溶液0.5、1、2、5、10mL,分别置10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取溶液各10 μ L,注入液相色谱仪进行测定。以对照品进样量(mg)为横坐标,峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线。结果表明补骨脂素在0.0470~0.9400mg范围内时,进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系;异补骨脂素在0.0460~0.9200mg范围内时,异补骨脂素进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。回归方程为:

$$\text{补骨脂素: } Y = 7.1211 \times 10^6 X + 5.1969 \times 10^3 \quad (r = 0.9999)$$

$$\text{异补骨脂素: } Y = 7.1589 \times 10^6 X + 5.1495 \times 10^3 \quad (r = 0.9999)$$

4 讨论

有关青参胶囊中青藤碱含量测定方法的文献报道较少,本实验建立了青藤碱含量测定的高效液相色谱法,并对青藤碱样品的提取方法进行了考察,结果发现经超声提取30min后,青藤碱基本完全提取出来。同时,样品中青藤碱峰与杂质峰完全分离,分析时间短,

结果准确,重现性良好,可作为青参胶囊的质量控制的依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 2005年版一部. 北京: 化学工业出版社, 2005.

(2009-12-02 收稿) □