

2. 0 $\mu$ g 范围内呈良好线性关系。

### 3. 精密度试验

取对乙酰氨基酚对照品溶液, 按上述色谱条件, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 其 RSD 为 0. 11%。

### 4. 重复性试验

取同一批号供试样品, 精密称取 5 份, 按上述色谱条件平行测定其含量, 平均值为 102. 0%, 其 RSD 为 0. 1%。

### 5. 稳定性试验

按测定溶液的制备方法制备 051201 批样品一份, 按上述色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12h 连续进样, 结果对乙酰氨基酚平均含量 102. 0%, RSD 为 0. 4%, 说明样品溶液在 12h 内稳定。

### 6. 回收率试验

精密称取对乙酰氨基酚对照品 50 mg, 置 25ml 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。另精密称取已知含量的小儿氨酚黄那敏片适量 (约相当于对乙酰氨基酚 4mg), 置 100ml 量瓶中, 精密加入上述对照品溶液 2. 0ml, 再加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。分别精密量取续滤液 10 $\mu$ l 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算, 结果平均回收率为 99. 70%, RSD 为 0. 3%。

### 7. 样品的含量测定

分别取上述 3 批小儿氨酚黄那敏片供试品溶液各 4 份, 依法测定, 记录峰面积, 以外标法计算含量

(以标示量计), 同时用紫外分光光度法<sup>[1]</sup>测定上述样品, 结果见表 1

表 1 样品测定结果 (n= 4)

产品批号	HPLC 法		UV 法	
	含量%	RSD%	含量%	RSD%
051201	102. 0	0. 3	98. 4	0. 6
060101	101. 4	0. 2	99. 8	0. 5
060102	101. 2	0. 4	100. 0	0. 4

## 四、讨论

1. 采用本文方法测定小儿氨酚黄那敏片中对乙酰氨基酚的含量, 方法简便、准确、重现性好。

2. 超声时间的选择制剂中对乙酰氨基酚为酯溶性, 分别置超声 2、5、10、20min 后进样测定, 结果选 10min 样品已全部溶解。

3. 马来酸氯苯那敏在 261nm 处有最大吸收, 而对乙酰氨基酚在 245nm 处有最大吸收; 采用 261nm 波长检测, 由于马来酸氯苯那敏在制剂中含量较低, 要求柱温 40 , 重复性及回收率均不理想。

### 参考文献

- [1] 国家药品标准[S]. WS-10001-(HD-0213)-2002
- [2] 周静安、蒋忠文. HPLC 法测定小儿氨酚黄那敏颗粒中对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏的含量[J]. 中国药品标准, 2005, 6(3): 75
- [3] 石晶萍、李雪兰、王京玲等. HPLC 法测定小儿氨酚黄那敏颗粒中对乙酰氨基酚的含量. 中国药事[J], 2005, 19(11): 673

## HPLC 测定冠脉宁片中葛根素的含量

秦 健 王珂雅 吴孟岚(贵州省黔东南州药品检验所 凯里 556000)

**摘要** 目的: 采用高效液相色谱法测定冠脉宁片中葛根素的含量。方法: 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>(4. 6mm×250mm, 5 $\mu$ m); 流动相为甲醇-水(25: 75); 流速 1ml·min<sup>-1</sup>; 柱温 30℃; 检测波长 250nm。结果: 葛根素进样量在 0. 0512 ~ 0. 819 $\mu$ g 内呈良好线性关系, r= 0. 9999, 平均回收率 99. 50%, RSD 为 1. 6% (n= 6)。结论: 本方法简便、准确、重现性好。

**关键词** 冠脉宁片; 葛根素; 高效液相色谱法

中图分类号: 921. 2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2007)-3-40-3

## Determination of Puerarin in Guanmaining Tablets by HPLC

Qin Jian, Wang Ke-ya, Wu Meng-lan(Qiandongnan Institute for Drug Control of Guizhou Province, Kaili 556000)

**Abstract Objective:** An HPLC method for the determination of puerarin in Guanmaining Tablets. **Method:** A Diamonsil C<sub>18</sub> column (4. 6mm×250mm, 5 $\mu$ m) was used with methanol-water (25: 75) as mobile phase. The flow rate was 1ml·min<sup>-1</sup> and column temperature was 30 . Content was detected at a wavelength of 250nm. **Results:** The linear range was 0. 0512 ~

0.819 $\mu\text{g}$ ,  $r = 0.9999$ . The average recovery rate was 99.50%, RSD = 1.6% ( $n = 6$ ). **Conclusion:** The method was simple, accurate and reproducible.

**Key words** Guanmaining Tablets; Puerarin; HPLC

冠脉宁片原收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十册,由丹参、葛根、鸡血藤、血竭、冰片等 14 味中药制成,具有活血化瘀、行气止痛的功效。主要用于冠心病,心绞痛,冠状动脉供血不足。方中葛根中的葛根素具有改善冠脉循环,降低心肌氧耗,改善心肌收缩功能,改善微循环的作用<sup>[1]</sup>。原标准无含量测定项,为了更好的控制产品的质量,本文建立了用 HPLC 测定葛根素含量的方法,本方法简便、快速、结果准确。为该制剂的质量控制提供了实验依据。

## 一、仪器与试剂

1. 仪器 Waters1525 高效液相色谱仪(包括二元泵、柱温箱、手动进样器、UV 检测器),十万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多 AE240)。

2. 试剂 冠脉宁片及阴性样品(辖区内药厂提供),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,葛根素对照品(中国药品生物制品检定所)。

## 二、方法与结果

### 1. 色谱条件<sup>[2]</sup>

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6mm × 250mm, 5 $\mu\text{m}$ ); 流动相: 甲醇-水(25 : 75); 流速: 1ml · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 ; 检测波长: 250nm; 进样量: 10 $\mu\text{l}$ ; 理论板数按葛根素峰计算应不低于 3000。

### 2. 供试品溶液的制备

取本品 10 片,除去糖衣,精密称定,研细,取约 1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 30% 乙醇 50ml,称定重量,加热回流 30 分钟,放冷,再称定重量,用 30% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 3. 对照品溶液的制备

取葛根素对照品 10mg,精密称定,置 50ml 量瓶中,用 30% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1ml,置 10ml 量瓶中,用 30% 乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

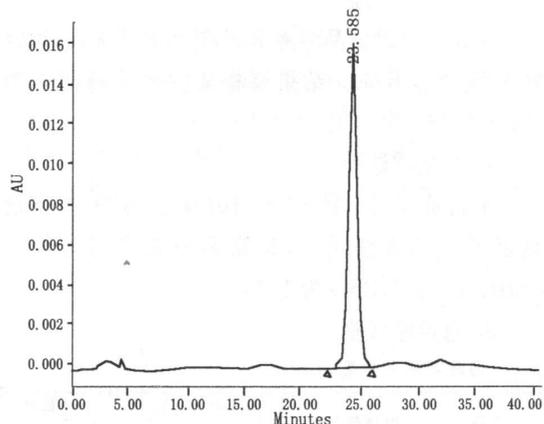
### 4. 阴性溶液的制备

取除粉葛外的其余处方量药材,按制备工艺方法制备缺粉葛的阴性样品,按上述供试品溶液制备方法制成缺粉葛的阴性溶液。

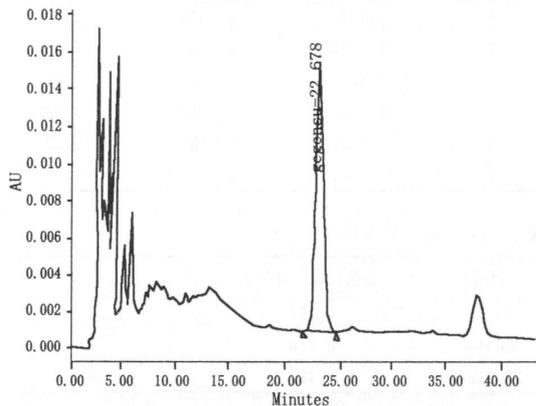
精密吸取供试品溶液、阴性液、对照品溶液各 10 $\mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪中测定,结果:空白无干扰。(见

图 1)

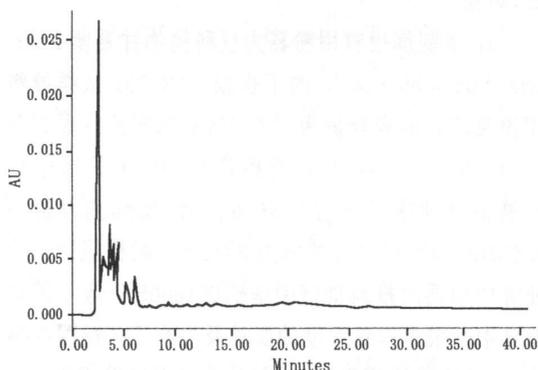
图 1)



A 葛根素对照品色谱图



B 冠脉宁片供试品色谱图



C 缺葛根的阴性色谱图

图 1 高效液相色谱图

### 5. 线性关系考察

精密称取葛根素对照品 0.01024g,置 50ml 量瓶中,加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 和 4.0ml 于 10ml 量瓶中,加 30% 乙醇至刻度,摇匀。依次吸取葛根素系列对照品溶液 10 $\mu\text{l}$  注入液相色谱仪,测定,以葛根素的峰面积为

纵坐标, 进样量( $\mu\text{g}$ )为横坐标, 绘制标准曲线。计算回归方程为  $Y = 4.15e + 004X - 3.96e + 003$ ,  $Y = 0.9999$ , 结果表明葛根素的进样量在  $0.0512 \sim 0.8192 \mu\text{g}$  与峰面积成良好的线性关系。

#### 6. 精密度试验

精密吸取供试品溶液  $10 \mu\text{l}$ , 连续进样 6 次, 测定峰面积计算 RSD。结果葛根素的平均峰面积为 754569, RSD 为 0.5%。

#### 7. 重复性试验

平行称取同一批号(031101)样品 6 份, 按含量测定项下的方法测定, 结果葛根素平均含量为  $0.910 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 为 1.7%。

#### 8. 稳定性试验

表 1 回收率测定结果( $n = 6$ )

编号	取样量(g)	样品中含葛根素量(mg)	添加葛根素量(mg)	实测葛根素总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	1.1384	1.0359	1.024	2.0628	100.28	99.50	1.62
2	1.1320	1.0301	1.024	2.0402	98.64		
3	1.1315	1.0297	1.024	2.0743	102.02		
4	1.1333	1.0313	1.024	2.0298	97.51		
5	1.1352	1.0330	1.024	2.0579	100.08		
6	1.1344	1.0323	1.024	2.0407	98.47		

表 2 样品测定结果( $n = 3$ )

批号	含量( $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ )	RSD(%)
031101	0.467	1.79
20031201	0.418	0.71
20031202	0.487	0.09

### 三、讨论

1. 本制剂投料用粉葛为豆科植物甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根。031101 试料用粉葛的葛根素含量为 0.50%, 冠脉宁片一处方量产出 1000 片, 其中每片含粉葛 0.1125g, 冠脉宁片含葛根素理论量应为 0.562mg/片, 实际测得量为 0.467mg/片, 结果转移率为 83.1%。根据冠脉宁片处方中粉葛的投料量, 《中国药典》2005 年版一部对粉葛中葛根素含量限度的要求及生产工艺过程的损失, 本品含量限度暂定为: 每片含粉葛以葛根素( $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_9$ )计, 不得少于 0.24mg。

2. 流动相的选择 比较了甲醇-水(21 79)、甲醇-水(25 75)、甲醇-水(30 70)不同流动相试验, 试验结果表明: 甲醇-水(21 79)葛根素峰保留时间过长, 甲醇-水(30 70)葛根素峰形不佳, 本法采用甲醇-水(25 75)为流动相, 葛根素峰形较前两种流动相好, 处方中各成分亦可有效地分离。

#### 3. 供试品提取方法的选择 用甲醇、10%乙

取供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24h 进样分析, 每次  $10 \mu\text{l}$ , 结果葛根素的平均峰面积为 776195, RSD 为 0.5%, 表明本品在 24 小时内稳定。

#### 9. 回收率试验

取已知含量为  $0.910 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (批号 031101,  $0.467 \text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ ) 的样品六份, 分别精密加入葛根素对照品溶液( $1.024 \text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 1ml, 按上述含量测定项下的方法测定含量, 结果见表 1。

#### 10. 样品测定

取三个批号的样品, 分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 依上述色谱条件, 注入高效液相色谱仪, 测定其中葛根素的峰面积, 以外标法计算葛根素的含量, 结果见表 2。

醇、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇为溶剂提取样品, 结果显示以 30%乙醇提取, 峰形最优且提取完全。经比较超声提取、回流提取及不同的回流时间试验, 结果以回流 30min 提取效果最佳。

4. 不同色谱柱、不同柱温、不同流速对试验的影响 分别比较了 Waters  $\text{C}_{18}$  (4.6mm  $\times$  150mm,  $5 \mu\text{m}$ )、Hyperclone  $\text{C}_{18}$  (4.6mm  $\times$  250mm,  $5 \mu\text{m}$ )、Diamondsil  $\text{C}_{18}$  (4.6mm  $\times$  250mm,  $5 \mu\text{m}$ ) 三种不同色谱柱, 30、35、40 三种不同柱温及  $0.8 \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $1.2 \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$  三种不同流速对试验的影响。结果表明不同的色谱柱、柱温及流速条件葛根素峰均能与样品中其它成分有效分离, 峰形亦较好。以上各种条件测定冠脉宁片中葛根素含量, 结果无显著差异, 说明该方法能用于常规检验。

5. 检测波长的选择 根据葛根素的紫外吸收图谱, 葛根素在 250nm 处有最大吸收, 故选择 250nm 为检测波长<sup>[2]</sup>。

致谢 辖区内药厂提供样品, 在此表示感谢。

#### 参考文献

- [1] 王海燕, 彭亚丽. 葛根素药理研究进展[J]. 《山东医药工业》, 2001, 20(4): 36~37
- [2] 中华人民共和国药典[S]. 一部, 2005