

HPLC 同时测定安渴胶囊中马钱苷和葛根素的含量

牛晓静*, 施钧瀚

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 建立同时测定安渴胶囊中马钱苷和葛根素含量的高效液相色谱法。方法: 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱, 流动相乙腈-水(12:88), 检测波长 240、250 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 马钱苷进样量在 0.31~2.175 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系, 葛根素进样量在 0.164~1.148 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。马钱苷平均回收率为 100.39%, RSD 0.72% (n=6); 葛根素平均回收率为 97.99%, RSD 1.98% (n=6)。结论: 高效液相色谱法简便可行、专属性强、重复性好, 可较好地控制安渴胶囊的质量。

[关键词] 安渴胶囊; 高效液相色谱法; 马钱苷; 葛根素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)15-0090-03

Simultaneous Determination of Loganin and Puerarin in Anke Capsule by HPLC

NIU Xiao-jing*, SHI Jun-han

(The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method for the assaying of loganin and puerarin in Anke capsule with HPLC method. **Method:** The chromatographic column was Agilent Eclipse XDB-C₁₈. The mobile phase was consisted of acetonitrile-water (12:88). The detection wavelength was 240 nm and 250 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The injection volume was 10 μL. **Result:** Loganin was linear in the range of 0.31-2.175 μg (r = 0.999 9). Puerarin was a linear in the range of 0.164-1.148 μg (r = 0.999 9). The average recovery of loganin

[收稿日期] 20110308(005)

[通讯作者] * 牛晓静, 硕士, 研究方向: 药物制剂及其质量标准, Tel: 0371-66233639, E-mail: niuxiaojing314@163.com

息。但望春花不同栽培品种间各共有峰相对峰面积的 RSD 亦存在着明显差异。

望春花为辛夷药材的主流品种, 在长期的应用和栽培的过程中, 种内产生很大变异, 对望春花质量稳定性和市场商品质量的一致性的判别及药材优选、监控市场流通等环节都产生直接影响。本实验以有效成分木兰脂素为标准所建立的望春花不同栽培品种指纹图谱, 可为望春花不同栽培品种开发应用、品质评价、质量标准制定提供一定科学依据。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 126.
- [2] 明·李时珍. 本草纲目. 下册[M]. 金陵版排印体, 北京: 人民卫生出版社, 1999: 1744.

- [3] 李和, 李佩文, 丁振华. 食品香料化学——杂环香味化合物[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1992: 120.
- [4] 忘文魁, 沈映君, 齐云, 等. 望春花油的抗炎机理[J]. 中国兽医学报, 2005, 25(3): 302.
- [5] 孙雪鹏, 汪年松, 薛勤, 等. 辛夷挥发油抑制糖尿病肾病大鼠血清及肾组织 P——选择素蛋白表达[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(5): 524.
- [6] 陈志东, 王锋, 汪年松, 等. 辛夷挥发油对内皮细胞与中性粒细胞黏附的抑制作用[J]. 陕西中医, 2005, 26(10): 1119.
- [7] 王少莉. 辛夷治疗过敏性鼻炎 80 例[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(8): 599.
- [8] 姜静, 尚宁, 范欣生. 中药辛夷雾化吸入治疗支气管哮喘[J]. 临床肺科杂志, 2001, 6(2): 17.

[责任编辑 蔡仲德]

was 100.39% and RSD was 0.72% ($n=6$). The average recovery of puerarin was 97.99% and RSD was 1.98% ($n=6$). **Conclusion:** This method was simple and specificity with good repeatability, it can be used for the quality control of Anke capsule.

[Key words] Anke capsule; HPLC; loganin; puerarin

安渴胶囊是由山茱萸、粉葛、枸杞子、山药等中药组成。具有补肾生津,化痰泻浊功能。临床用于治疗消渴病,肾阴虚兼血瘀型。为了控制该制剂的质量,本文选择方中君药山茱萸和臣药粉葛的有效成分马钱苷和葛根素作为含量控制的指标成分,采用高效液相对马钱苷和葛根素的含量进行测定,为该药的质量控制提供有效的方法。

1 仪器及试剂

岛津 LC-10AT VP 型高效液相色谱仪(日本), SIL-20A 自动进样器(日本), CLASS-VP 色谱工作站(日本), Aglient Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm), 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 中药饮片由河南中医学院第一附属医院中药房提供; 葛根素对照品(110752-200511)、马钱苷对照品(111640-200401)由中国药品生物制品检定所提供; 安渴胶囊(自制,批号 100726, 100728, 100730)。乙腈为色谱纯,水为纯净水。其他化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Aglient Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 乙腈-水(12:88); 检测波长 240 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 马钱苷对照品溶液的配制: 取马钱苷对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含马钱苷 150 μg 的溶液, 即得。

葛根素对照品溶液的配制: 取葛根素对照品适量, 精密称定, 加 30% 乙醇溶解, 制成每 1 mL 含葛根素 80 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品内容物研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加入 30% 乙醇超声提取 30 min, 过滤, 取续滤液, 微孔滤膜过滤(0.45 μm), 即可。

2.4 阴性对照供试品溶液的制备 处方中分别去除山茱萸、粉葛, 将余药按安渴胶囊制备工艺制备, 按 2.3 项下方法分别制备阴性对照溶液。

2.5 标准曲线的绘制 分别精密吸取上述马钱苷

和葛根素对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 μL, 按上述色谱条件测定。以进样量(μL)为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程分别为 $Y = 289168X - 936.14$ ($r = 0.9999$), $Y = 250249X + 2571.3$ ($r = 0.9999$)。结果表明, 马钱苷进样量在 0.31 ~ 2.175 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系, 葛根素进样量在 0.164 ~ 1.148 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 吸取同一份供试品溶液, 连续进样 6 次, 按上述色谱条件测定。结果马钱苷 RSD 0.17%, 葛根素 RSD 0.28%, 表明方法精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批样品适量, 按 2.3 项下方法制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件测定。结果马钱苷平均为 1.90 mg·kg⁻¹, RSD 0.62%; 葛根素平均为 0.70 mg·kg⁻¹, RSD 0.19%。结果表明方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 测定马钱苷和葛根素峰面积积分值。结果马钱苷 RSD 1.12%, 葛根素 RSD 0.87%。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验 取同一供试品(批号 100730) 6 份, 每份精密称取 0.26 g, 分别加入 82 mg·L⁻¹ 的葛根素对照品溶液 6 mL, 加入 155.36 mg·L⁻¹ 的马钱苷 5 mL, 按 2.3 项下方法制得供试品溶液, 进样测定, 计算加样回收率。马钱苷平均回收率为 100.39%, RSD 0.72% ($n=6$); 葛根素平均回收率为 97.99%, RSD 1.98% ($n=6$)。

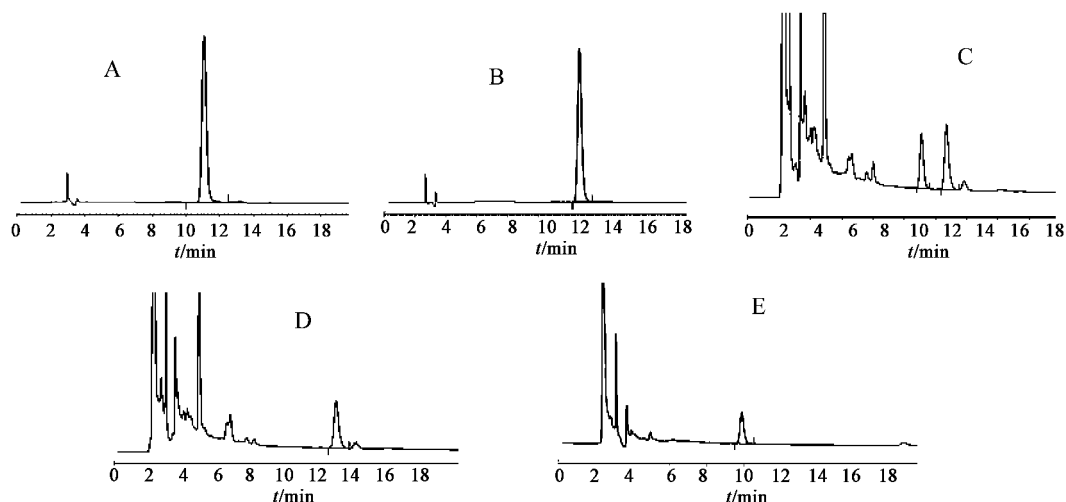
表 1 安渴胶囊马钱苷加样回收率试验

取样量 /g	马钱苷含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
0.264 6	0.509 6	0.777 0	1.281 8	100.39	0.72
0.263 1	0.506 7	0.777 0	1.281 5		
0.260 6	0.501 9	0.777 0	1.282 2		
0.260 1	0.501 0	0.777 0	1.283 8		
0.262 1	0.504 8	0.777 0	1.288 1		
0.260 3	0.501 3	0.777 0	1.288 3		

表 2 安渴胶囊葛根素加样回收率试验

取样量 /g	葛根素含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
0.264 6	0.185 0	0.246 0	0.432 3	97.9	1.98
0.263 1	0.183 9	0.246 0	0.430 3		
0.260 6	0.182 2	0.246 0	0.419 1		
0.260 1	0.181 8	0.246 0	0.420 5		
0.262 1	0.183 2	0.246 0	0.423 9		
0.260 3	0.182 0	0.246 0	0.418 1		

2.10 样品含量测定 分别取 3 个批次的样品,按



A. 葛根素对照品溶液; B. 马钱苷对照品溶液; C. 安渴胶囊供试品溶液;
D. 缺粉葛阴性对照溶液; E. 缺山茱萸阴性对照溶液

图 1 安渴胶囊高效液相色谱图

3 讨论

3.1 流动相的考察 考察了不同的流动相,包括①甲醇-水(25:75)、②甲醇-水(23:77)、③乙腈-水(15:85)、④乙腈-水(13:87)、⑤乙腈-水(12:88)。结果表明乙腈-水(12:88)系统最佳,色谱峰峰型好,峰型变得比较尖锐,拖尾现象得到改善,各色谱峰分离良好,保留时间适宜。

3.2 供试品溶液的处理方法考察 选择用 30% 乙醇提取,分别采用加热回流、超声 30 min 处理 2 种方法进行了比较,结果所得葛根素含量差别不大,马钱苷含量差别不大,因超声提取较为方便,且重复性

好,故采用超声方法提取。也有文献报道采用甲醇超声^[2-3],经试验研究发现采用甲醇超声提取率并不高,而且杂质较多。故采用 30% 乙醇超声 30 min。

2.3 项下方法制得供试品溶液,进样测定,按外标法计算含量。结果 3 批样品中的马钱苷含量分别为 1.90 2.01 1.96 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,葛根素含量分别为 0.70, 0.74 0.77 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。2 种成分在各批次间的含量差异较小,提示安渴胶囊中马钱苷和葛根素两种成分含量稳定。

2.11 专属性试验 分别吸取缺山茱萸阴性对照溶液、缺粉葛阴性对照溶液、对照品溶液与供试品溶液进样 10 μL ,记录色谱图(图 1)。结果阴性对照对测定无干扰。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:26 272.
- [2] 张蜀,邓红,林华庆,等.丹清颗粒的质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(4):15.
- [3] 马玲,叶磊.高效液相色谱法测定养阴明目颗粒中马钱苷含量[J].中国药业,2010,19(5):32.

[责任编辑 蔡仲德]