

高效液相色谱法测定降压平片中的葛根素含量

李雪松, 关云娇

[摘要] 目的 建立测定降压平片中葛根素的高效液相色谱法。方法 采用色谱柱: Dimonsil-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-水 (6:8:86); 检测波长: 250 nm, 对方中葛根的有效成分葛根素进行含量测定。结果 葛根素回归方程为 $Y = 46.512 - 53X - 36.398 - 96$, $r = 0.9999$, 在 24~96 μg/ml 浓度范围呈良好的线性关系。平均加样回收率为 98.64%, RSD 为 0.41% ($n = 6$)。结论 该法简便可行、重复性好, 可以用来控制降压平片的质量。

[关键词] 降压平片; 葛根素; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R927.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2011)04-0348-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.04.022

Detem ination of Puerarin in *Jiangyaping* Tablets by High Performance Liquid Chrom atography

LI Xue-song GUAN Yun-jiao

Jilin Headay Science and Technology Co., Ltd Changchun 130022, China

[Abstract] **Objective** To establish a method for detem ination of puerarin in *Jiangyaping* tablets by high performance liqu id chrom atography **Methods** A Dimonsil-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) and mobile phase of methano l-aceton itrile-water (6:8:86) were used The detection wavelength was 250 nm. **Results** The calibration curve was in good linear relationship over the range of 24-96 μg/ml ($r = 0.9999$). The average recovery was 98.64%, and RSD was 0.41% ($n = 4$). **Conclusion** This method is simple, quick, sensitive, accurate, reproduc ible and can be used to control the quality of *Jiangyaping* tablets

[Key words] *Jiangyaping* tablets; puerarin; high performance liqu id chrom atography; detem ination

复方制剂降压平片^[1]由夏枯草、葛根、珍珠母、菊叶、淡竹叶、芦丁、槲寄生等 11 味药组成, 降压, 清头目。用于高血压及高血压引起的头晕、目眩。为了建立该制剂的质量检测标准, 采用高效液相色谱 (high performance liqu id chrom atography, HPLC) 对方中葛根的有效成分葛根素^[2]进行了含量测定。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪, 包括 LC-10AT 泵、SPD-M 10A 二级管阵列检测器、CLASS-VP 6 0 色谱工作站; LC-2010AHT 泵、SPD-10A 紫外检测器、CLASS-VP 6 0 色谱工作站; UV-2401 紫外分光光度计 (均为日本岛津制作所)。降压平片 (规格: 0.3 g/片, 吉林省海的科技公司, 批号: 090801、090802、100901、100902、100903), 葛根素对照品 (中国药品生物制品检定所), 甲醇、乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

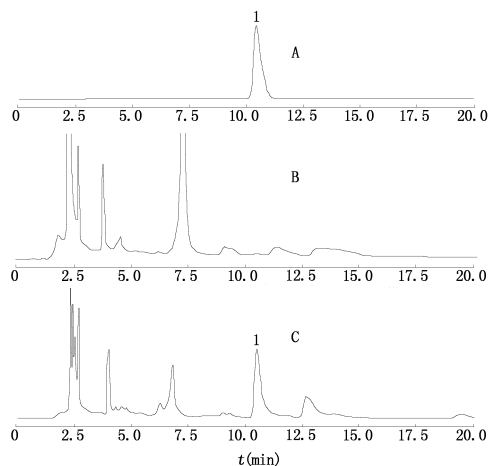
2.1 色谱条件^[3,4] 色谱柱 Dimonsil-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-水 (6:8:86); 检测波长: 250 nm。柱温: 25℃, 进样量: 10 μl

2.2 溶液的制备 (1) 对照品溶液 取葛根素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 60 μg/ml 的溶液, 即得。(2) 供试品溶液 取本品 20 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 取约 1 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 100 ml 密塞, 称定重量, 加热回流 1 h 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, 即得。(3) 阴性对照溶液 按处方量制备不含葛根药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备, 即得。

2.3 专属性试验 分别精密吸取对照品、供试品和阴性对照溶液各 10 μl 注入液相色谱仪中, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果表明, 阴性对照溶液色谱图中对应于对照品位置处无干扰。理论板数按葛根素峰计算应不低于 3000。见图 1。

作者简介: 李雪松, 工程师。研究方向: 药物分析。Tel (0431) 85350360 E-mail cell_2@126.com

作者单位: 130022 吉林长春, 吉林省海的科技有限公司



A: 对照品; B 阴性对照; C: 供试品; 1 葛根素

图 1 降压平片的 HPLC 图谱

2.4 线性关系考察 取葛根素对照品适量, 加甲醇分别制成 24、36、48、60、72、84、96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液, 精密吸取上述对照品溶液 10 μl 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 以浓度 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为:

$$Y = 46\,512.53X - 36\,398.96 \quad r = 0.9999$$

表明葛根素在 24~96 $\mu\text{g}/\text{m}$ 浓度范围内, 峰面积与浓度呈良好线性关系。

2.5 精密性试验 精密吸取同一批 (批号: 090801) 供试品溶液, 连续 5 次重复进样, 按 2.1 项下色谱条件测定葛根素含量。结果表明 RSD 为 0.88%, 方法精密性良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液 (批号: 090801), 分别在 0.2、4、6、8 h 进样, 进样 10 μl 记录峰面积。结果显示, 葛根素 RSD 为 0.69% ($n = 5$), 表明 8 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取本品同一批 (批号: 090801) 样品称取低、中、高 3 个重量各 2 份, 按 2.1 项下色谱条件测定其含量。结果表明 RSD 为 1.03% ($n = 6$), 方法重复性良好。

2.8 回收率试验 取已知含量供试品 (含葛根素 6.1733 mg/g) 约 0.5 g 6 份, 分别置于 6 只具塞锥形瓶中, 再分别精密量取葛根素对照品溶液 (浓度为 0.5913 mg/ml) 4、0.5、0.6、0 ml 各 2 份, 分别加入上述 6 只具塞锥形瓶中, 按 2.1 项下色谱条件测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

2.9 含量测定 取供试品 5 批, 按 2.1 项下色谱条件进行样品中葛根素的含量测定, 结果见表 2。

表 1 回收率试验结果 ($n = 6$)

取样量 (g)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
0.4863	3.00	2.37	5.33	98.27		
0.4758	2.94	2.37	5.27	98.61		
0.4851	2.99	2.95	5.93	99.42	98.64	0.41
0.4829	2.98	2.95	5.89	98.36		
0.4876	3.01	3.55	6.50	98.53		
0.4853	2.99	3.55	6.50	98.68		

表 2 样品含量测定结果 ($n = 5$)

样品批号	含量 (mg/片)	RSD (%)
090801	2.01	1.01
090802	1.86	0.59
100901	2.03	0.98
100902	1.97	0.96
100903	1.89	0.68

3 讨论

3.1 检测波长的选择 取葛根素对照品适量, 加甲醇制成 30 $\mu\text{g}/\text{m}$ 的溶液, 于 200~400 nm 波长下测定光谱图, 在 250.30 nm 处有最大吸收峰, 故检测波长选定为 250 nm。

3.2 回流提取时间的确定 本试验根据葛根素的理化性质, 分别称取等量的本品, 利用回流提取处理, 比较 1、0.5、2、0 h 等不同回流提取时间, 结果不同回流提取时间制备的供试品中葛根素的含量以 60 min 时提取效果最好, 所以选定回流提取 1.0 h 制备供试品溶液。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂 (第 3 册) [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 131
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 233-234
- [3] 苏春晖. 葛根临床应用 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(4): 293
- [4] 巢建国, 刘产明. 苍葛止泻灵颗粒剂的制备及其质量控制 [J]. 南京中医药大学学报, 2001, 17(1): 28-29

(收稿日期: 2010-11-09; 修回日期: 2011-05-03)

(本文编辑 金杨红)