

高效毛细管电泳法测定葛根及其制剂正心泰胶囊中葛根素的含量

李红兵 孙立华 胡永明 纪松岗¹ (青岛 266071 青岛市药品检验所; ¹ 海军四零一医院)

摘要 目的: 测定葛根(野葛、粉葛)及其制剂正心泰胶囊中葛根素的含量。方法: 采用高效毛细管电泳法, 双氯灭痛为内标物。测定条件为: 运行缓冲液: 30 mmol/L 硼砂缓冲溶液(PH: 9.37); 操作电压 30 kV, 紫外检测波长 254 nm。结果: 葛根素的线性范围为 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 葛根的平均回收率为 97.53% (RSD: 2.1%, $n=5$); 正心泰胶囊平均回收率为 102.31% (RSD: 1.7%, $n=5$)。结论: 该方法简便、快捷, 具有良好的精密性、回收率和线性关系, 结果满意。

关键词 高效毛细管电泳; 葛根素; 正心泰胶囊

Determination of Puerarin in Radix Puerariae and Zhengxintai capsules by HPCE

Li Hongbing, Sun Lihua, Hu Yonming, Ji Songgang¹ (Qingdao Institute for Drugs Control; ¹ No. 401 Naval Hospital, Qingdao 266071)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine Puerarin in Radix Puerariae and Zhengxintai capsules. **METHOD:** An HPCE method is used. Diclophenac Sodium is used as internal standard. HPCE conditions are: buffer= 30 mmol/L (borate, pH= 9.37), applied voltage 30kV (positive to negative). UV detector $\lambda = 254\text{nm}$. **RESULT:** The standard curve is linear over the range of 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the correlation coefficient 0.9998. The average recovery is 97.53% (RSD% = 2.1%, $n=5$) for Radix Puerariae and 102.31% (RSD% = 1.7%, $n=5$) for Zhengxintai capsules. **CONCLUSION:** The method is simple and fast for analysis of Puerarin.

KEY WORDS HPCE, Puerarin, Zhengxintai capsules

正心泰胶囊是由黄芪、葛根、槲寄生等提取与川芎相混经干燥而成, 具补气活血、通脉益肾之功效, 用于冠心病、心绞痛。葛根素的含量测定原部颁标准中采用的是经薄层分离、紫外分光光度法, 与之相比高效毛细管电泳法(HPCE法)^[1,2]具有分析周期短、消耗溶剂少、费用低、抗污染能力强的优点, 适宜于葛根及其制剂中葛根素的快速定量分析。本文以双氯灭痛为内标测定了葛根及其制剂正心泰胶囊中葛根素的含量。

1 仪器和试剂

Beckman P/A system 5000 型毛细管电泳仪(美国 Beckman 公司); 熔融石英毛细管柱 75 μm X 77 cm。硼砂为分析纯, 甲醇为色谱纯。葛根素、双氯灭痛对照品: 中国药品生物制品检定所提供。

2 操作条件

运行缓冲液: 30 mmol/L 硼砂溶液; 操作电压 30 kV, 极性由正到负, 紫外检测波长 254 nm, 柱温 25℃; 采用压力进样, 进样时间 5 s。

毛细管冲洗方法: 开机后用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液冲洗 2 min, 运行缓冲液 2 min。每次测定之间运行缓冲液冲洗 1 min。

3 测试溶液的制备

3.1 对照品贮备溶液的制备

精密称取葛根素对照品 12.5 mg, 用甲醇定容成浓度为 0.5 mg/mL 的对照品溶液。

3.2 内标溶液的制备

精密称取双氯灭痛一定量, 加甲醇配成 360 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 备用。

3.3 样品溶液的制备

3.3.1 取葛根生药粉适量, 精密称定, 精密加入内标溶液 25 mL、甲醇 25 mL, 称定重量, 超声处理 1 h, 放冷, 加甲醇补足重量, 静置, 取上清液作为样品溶液。

3.3.2 取正心泰胶囊 10 粒, 倾出内容物, 研细, 混匀, 精密称取 0.1 g, 精密称定, 精密加入内标溶液 25 mL、甲醇 25 mL, 称定重量, 超声处理 1 h, 放冷, 加甲醇补足重量, 静置, 取上清液作为样品溶液。

3.4 阴性溶液的制备

按处方比例和正心泰胶囊制备工艺制成不含葛根的正心泰胶囊, 照样品溶液制备方法制备阴性液。

4 结果

4.1 电泳行为

在本文操作条件下, 葛根素、双氯灭痛分离良好, 阴性溶液与对照品溶液峰及内标溶液峰没有重叠。

4.2 线性范围

精密吸取葛根素对照品贮备溶液 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 ml 置于 10 ml 容量瓶中, 加入内标溶液 5.0 ml, 再加甲醇至刻度, 摇匀。以对照品质量浓度 $x(\mu\text{g/ml})$ 为横坐标, 以对照品的校正峰面积(对照品峰面积/内标物峰面积)之比 Y 为纵坐标, 计算回归方程。葛根素的质量浓度在 10~100 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与校正峰面积成线性关系, 相关系数 $r=0.9998$, 表明方法的线性关系良好。回归方程: $Y=0.006211+0.01938X$ $r=0.9998$ 。

4.3 精密度

取低、中、高三个质量浓度的葛根素对照品溶液加入一定量的内标溶液, 连续进样 3 次, 校正峰面积的日内精密度 RSD 在 1.6% 以内, 日间精密度 RSD 在 1.8% 以内。结果见表 1。

表 1 精密度测定结果(n=3)

浓度 $\mu\text{g/ml}$	RSD%	
	日内	日间
10	1.6	1.8
40	1.2	1.2
80	1.0	1.5

4.4 重现性及稳定性试验

取同一葛根及正心泰样品分别测定五次, RSD% 分别为 2.65%, 2.46%。说明本方法具有较好的重现性。分别制取葛根及正心泰样品供试液, 每小时测定一次, 共五次, RSD% 分别为 2.03%, 2.49%, 说明样品供试液在 5 h 内具有较好的稳定性。

表 2 回收率试验结果

样品	加量 (μg)	实测量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%) (n=5)	RSD (%)
葛根	54.33	53.14	97.81	97.53	2.1
	81.50	80.56	98.85		
	108.66	101.98	93.85		
	162.99	160.53	98.49		
	217.32	214.41	98.66		
正心泰胶囊	21.73	22.69	104.41	102.31	1.7
	32.60	33.37	102.36		
	54.33	56.23	103.49		
	76.06	76.10	100.05		
	97.79	98.99	101.22		

4.5 回收率试验

向已知含量的葛根供试液及正心泰成药的阴性供试液中, 精密加入不同量的葛根素对照溶液, 如法测定, 计算回收率。结果见表 2。

4.6 样品测定

取不同批次正心泰胶囊以及野葛和粉葛, 依法测定, 结果见表 3。

表 3 样品测定结果

样品	批号	葛根素含量(mg/g)	RSD% (n=3)
野葛	1	25.46	0.6
	2	18.79	1.3
	3	21.68	1.7
粉葛	1	0.979	1.0
	2	14.32	0.9
	3	1.86	1.2
正心泰胶囊	980825	16.49	2.0
	980921	15.13	1.7
	980820	16.20	1.0

5 讨论

5.1 分离条件的选择: 葛根与正心泰的样品溶液中, 有一未知组分干扰葛根素的分离测定, 为此考察了硼砂缓冲溶液的 pH 值和浓度对分离的影响。结果显示, 在 pH 7.5~9.5 的范围内, 缓冲溶液的 pH 对分离无显著影响, 而硼砂的浓度对分离影响显著, 当硼砂浓度增加到 30 mmol/L 时, 可产生良好的分离, 故确定 30 mmol/L 硼砂溶液为运行缓冲液。

5.2 野葛中葛根素含量(18.79~25.46 mg/g)明显高于粉葛(0.824~14.32 mg/g), 而且野葛的质量相对稳定, 粉葛的品质不一, 葛根素含量变化很大。

5.3 由试验结果分析, 正心泰胶囊中加的是野葛。

参考文献

1 陈勇川, 董 慧. 毛细管电泳法测定麻附胶囊中麻黄碱和伪麻黄碱的含量. 中成药, 1999, 21(3): 117.
2 尹 茶, 吴玉田. 高效毛细管电泳法测定银翘解毒片中绿原酸、甘草酸和甘草次酸. 色谱, 1999, 17(2): 193~195.

收稿日期: 2000-02-16