

柴葛解肌颗粒剂中葛根素的含量测定

周燕波(杭州 310006 浙江医药股份有限公司)

摘要 目的: 应用高效液相法测定柴葛解肌颗粒剂中葛根素的含量。方法: 在 C_{18} 柱上以甲醇-水(25: 75)为流动相, 用外标法定量。结果: 结果表明, 葛根素在 $0.099 \mu\text{g} \sim 0.495 \mu\text{g}$ 范围内与色谱峰面积呈线性关系; 回归方程为: $Y = 40845540.584X - 6198.21$, $r = 0.9996$; 加样回收率为 98.4%, $RSD = 1.56\%$ ($n = 6$)。结论: 该法简便、准确、灵敏度高, 可作为本品含量测定方法。
关键词 高效液相法; 柴葛解肌颗粒剂; 葛根素

HPLC DETERMINATION OF PUERARIN IN BUPLEURUM-PUERARIAE GRAININESS

Zhou Yan-bo(Zhejiang pharmaceuticals Co. Ltd 310006)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** Puerarin in Bupleurum-puerariae graininess were determined by HPLC. **METHOED:** A C_{18} Column was employed, methanol-water (25: 75) was used as mobile phase. **RESULT:** Puerarin contents between $0.099 \sim 0.495 \mu\text{g}$ were linearly related to the peak area. The regression equation was: $Y = 40845540.584X - 6198.21$, $r = 0.9996$; the recovery rate was 98.4%, $RSD = 1.56\%$ ($n = 6$). **CONCLUSION:** This method is simple, accurate, sensitive, and can be used as a method for the determination of puerarin content in this product.

495 μg range were linear with peak area. The linear equation was $Y = 40845540.584X - 6198.21$ and the relative coefficient r is 0.9996, the recovery is 98.4% ($\text{RSD} = 1.56\%$) ($n = 6$). **CONCLUSION:** This method is simple, accurate and highly sensitive.

KEY WORDS HPLC Bupleurum -puerariae graininess puerarin

本制剂是由葛根、柴胡、黄芩、石膏等药物组成的,具有清热解肌的功效。用于表证发热重,恶寒轻,口渴,鼻干,目眶痛等症。其中葛根为方中主药,而葛根素则是葛根的主要有效成份,因此采用高效液相法测定葛根素的含量,可以为控制本制剂质量提供可靠的实验依据。

1 仪器、试剂与药品

仪器:日本岛津 LC-10A 高效液相色谱法(日本岛津公司);KQ-500E 型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

试剂:流动相中甲醇为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯。

药品:葛根素对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号为 980423);柴葛解肌颗粒剂自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:YW G-C₁₈(150 mm $\times$ 4.6 mm)色谱柱(大连化学工业研究所);流动相:甲醇-重蒸水(25:75);流速:1.0 ml/min;紫外检测波长:250 nm;柱温 30℃。结果见图 1。

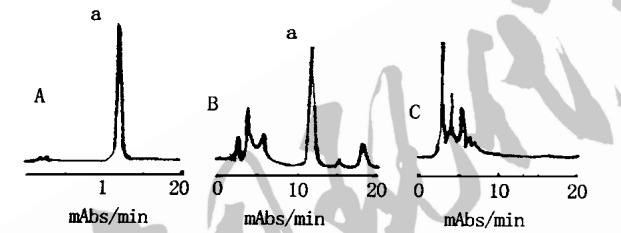


图 1 色谱图

A- 对照品; B- 供试品; C- 空白; a- 葛根素

2.2 对照品溶液的制备及标准曲线测试

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取葛根素对照品 4.950 mg,置 10 ml 的容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密吸取 1 ml,置 10 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 0.0495 mg/ml 的葛根素对照品溶液。

2.2.2 标准曲线绘制

精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μl ,在上述色谱条件下重复进样二次,测定峰面积值,以峰面积平均值和浓度进行回归处理,得回归方程 $Y = 40845540.584X - 6198.21$, $r = 0.9996$,表明葛根素在 0.099~0.495 μg 之间线性关系良好。

2.3 超声提取次数的考察

取本品颗粒 3 g,研细,精密称定,置小烧杯中,加甲醇 20 ml 超声提取 10 min,过滤至 50 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,作为超声提取第一次的样品液。颗粒残渣续加甲醇超声提取,余同上操作分别制得第二、第三次超声提取样品液。精密吸取各供试液 10 μl ,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,结果见表 1:

表 1 超声提取次数对葛根素的影响

超声提取次数	葛根素含量(μg)
1	0.7515
2	0.0214
3	0.0000

由上表可知:样品超声提取两次已基本提取完全。

2.4 供试品溶液的制备

称取本品 3 g,研细,精密称取,置小烧杯中,第一次加入甲醇 20 ml,超声 10 min,过滤至 50 ml 的容量瓶中,将滤纸及残渣再用 20 ml 的甲醇超声 10 min,过滤至容量瓶中,定容至刻度。从上液中吸取 7 ml,加甲醇定容到 25 ml,摇匀,即得。

2.5 精密度试验

精密吸取浓度为 0.0198 mg/ml 的对照品溶液 10 μl ,按所选定的条件,连续重复进样 5 次,测定结果 RSD 为 1.18%。说明葛根素在该色谱条件下测得的峰面积值稳定性好。

2.6 重复性试验

取同一批号样品进行 5 次平行试验,测得其葛根素的含量,测定结果 RSD 为 2.54%。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液,每隔 1 小时进样 10 μl ,重复 5 次,测定各峰面积值,测定结果 RSD 为 2.34%。表明,供试品溶液在 5 小时内基本稳定。

2.8 样品的含量测定

取供试品溶液,自动进样 10 μl ,测定色谱峰面积,以外标法计算含量,结果见表 2:

表 2 样品中葛根素的含量($n = 3$)

批号	平均含量 (mg/g)	RSD (%)
000308	0.3961	2.58
000310	0.3913	1.89
000312	0.3867	0.86

2.9 加样回收率试验

称取批号为 000308 的柴葛解肌颗粒剂适量,研细,精密称定六份,分别放入小烧杯内,每个杯中加入葛根素标准液(0.0395 mg/ml)10 ml,再加入甲醇适量,超声提取两次,每次 20 min,过滤,合并两次滤液,用甲醇定容至 25 ml,即得六份供试液。按上述色谱条件,每份进样 10 μl ,测定峰面积,计算加样回收率,结果见表 4:

由表 4 可知:本方法的加样回收率以葛根素加入量计算符合要求。

3 小结与讨论

据文献报导葛根素的提取方法很多,较常用的有加热回

表 4 复方柴葛解肌颗粒剂中葛根素的加样回收率测定结果

No.	样品中 葛根素量 (mg)	加入标 准品量 (mg)	实测葛 根素量 (mg)	加样 回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
1	0.3565		0.7468	98.8		
2	0.3583		0.7537	100.1		
3	0.3605	0.395	0.7535	99.5	98.4	1.56
4	0.3600		0.7510	99.0		
5	0.3581		0.7373	96.0		
6	0.3574		0.7413	97.2		

流法和超声提取法。加热回流法耗时长,提取杂质较多;超声提取是利用超声波的波效应、机械粉碎作用和空化作用,提取杂质较少,并且耗时短,操作简便。而加热回流法和超声提取法的提取率无明显差异^[2]。因此,我们决定采用超声提

取法来处理样品,且实验结果也显示此法提取较完全。

本试液采用高效液相色谱法,本法能达到有效分离各组分的目的,且空白试验证明在葛根素色谱峰处其它成份无干扰。本法具有灵敏度高、操作简单、分离效果好等优点,可作为柴葛解肌颗粒剂的含量测定质量控制标准。

参考文献

- 1 张小茜, 燕云等. 应用高效液相色谱法测定愈风宁心片及葛根中葛根素的含量. 中国中药杂志, 1995, 20(8): 477.
- 2 刘洁怡, 刘军等. HPLC 法测定心舒宁片中葛根素的含量. 广东药学院学报, 1997, 13(4): 242.

收稿日期: 2001-04-18