

反相高效液相色谱法测定心安宁片中葛根素的含量

路玫¹, 韦戈¹, 黄雪梅¹, 吴禧明², 郭瑰春² (1. 广西区人民医院临床药理学室, 广西 南宁 530021; 2. 桂林医学院实习生, 广西 桂林 541004)

摘要:目的 建立心安宁片中葛根素含量测定的高效液相色谱法。方法 超声提取, 色谱柱为 Nova-Pak C₁₈ 柱(4μm, 150 mm × 4.0 mm), 流动相为甲醇:水(25:75), 检测波长为 250 nm。结果 葛根素浓度在 8.26 ~ 41.30 μg·mL⁻¹ 范围内与色谱峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$)。平均加样回收率为 100.15%, RSD=1.55% ($n=6$)。结论 本法简便、准确、灵敏度高、重现性好, 可用于心安宁片中葛根素的含量测定。

关键词:心安宁片; 葛根素; 反相高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2003)04-0305-02

Determination of puerarin in Xin' anning tablets by RP-HPLC

LU Mei, WEI Ge, HUANG Xue-mei, WU Xi-ming, GUO Gui-chun (Hospital of Guang Xi Autonomous Region, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an RP-HPLC for determination of the content of puerarin in Xin' anning tablets. **METHOD**

RP-HPLC analysis was carried out by using Nova-Pak C₁₈ column(4μm, 150 mm × 4.0 mm) and methanol: water(25:75) as mobile phase, and the detection wavelength was 250 nm. **RESULTS** A good linear relationship was obtained between the peak area and the concentration of puerarin from 8.26 ~ 41.30 μg·mL⁻¹ ($r=0.9999$), and the average recovery was 100.15% ($n=6$). **CONCLUSION** The method was simple, accurate, highly sensitive and reproducible. It may be used for the quantitative determination of the puerarin in Xin' anning tablets.

KEY WORDS: Xin' anning tablets; puerarin; RP-HPLC; determination

心安宁片是由葛根、何首乌、山楂、珍珠粉等药经提取加工而制成, 具有增强脑及冠状动脉血流量的功效。主要用于高血压头昏、头痛、颈项疼痛、冠心病、心绞痛等病的治疗。原质量标准较简单, 无定量指标控制本品质量。本实验参照中国药典 2000 年版(一部), 以葛根素为指标, 采用反相高效

液相色谱法测定其含量, 操作简便、准确, 可作为本品质量控制的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱系统(美国): 510 恒流泵, 7725i 进

样阀,486UV 检测器,746 数据处理仪;METTLER AE - 240 电子分析天平(瑞士);SB2200 超声仪(上海必能信超声有限公司)。

1.2 药品与试剂

心安宁片(广西天等制药厂,批号:011101、011102、011103);葛根素对照品(中国药品生物制品检定所,0752-9806);空白样品(广西天等制药厂);甲醇(优级醇,北京北化精细化学品有限责任公司 20010427);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Novar Pak C₁₈柱(4μm,150 mm×4.0 mm);流动相:甲醇-水(25:75);流速:0.8 mL·min⁻¹;检测波长 250nm;柱温:35℃。在此色谱条件下,取葛根素对照品、空白样品液、心安宁供试品溶液分别进样 10μL,所得的色谱图见图 1。

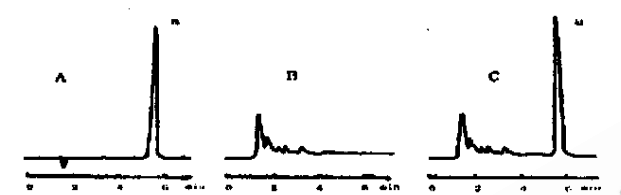


图 1 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

A. 葛根素对照品;B.空白样品;C.心安宁样品;D.葛根素色谱峰
A. chemical reference substance of puerarin; B. blank sample; C. sample; D. puerarin

由色谱图可见,在本实验条件下,心安宁片中葛根素色谱峰与其它组分色谱峰能很好分离,保留时间约为 5.6 min。

2.2 标准曲线的制备

精密称取葛根素对照品 8.26 mg,置于 10 mL 量瓶中,加蒸馏水适量溶解并稀释至刻度,摇匀,即得浓度为 0.826 mg·mL⁻¹的对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL 置于 5 个 50 mL 量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,即得浓度分别为 8.26,16.52,24.78,33.04,41.30 μg·mL⁻¹的标准曲线测定液,按上述色谱条件各进样 10μL 测定,以浓度 C 为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得标准曲线方程为:Y=105764.92 X+19595.05 (r=0.9999)。表明葛根素在 8.26~41.30 μg·mL⁻¹ 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 空白样品液、供试品溶液的制备

分别取空白样品、心安宁片各 20 片,去糖衣,精密称重,计算平均片重,研细。分别精密称取约 1/2 片重的空白样品片粉、心安宁片粉,各置于 50 mL 量瓶中,加入适量的蒸馏水,超声提取 20 min,放至室温后,添加蒸馏水至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液用于 HPLC 分析。

2.4 样品的测定

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10μL,注入液相色谱仪,依法测定,用外标一点法测定样品中葛根素的含量,每批测定 6 份,结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果(n=6)

Tab 1 Determination results of samples (n=6)

批 号	葛根素平均含量	RSD (%)
	mg·g ⁻¹	
011101	3.83	1.22
011102	3.92	1.53
011103	4.16	2.06

2.5 精密度实验

精密吸取浓度为 24.78 μg·mL⁻¹的对照品溶液 10μL,重复进样 6 次,依法测定色谱峰面积,结果葛根素峰面积积分值的 RSD=0.55%。

2.6 重现性实验

取同批号样品(批号:011101)6 份,分别按“2.3”项“供试品溶液制备”方法制备,按“2.4”项下平行测定,测得葛根素平均含量为 3.83 mg·g⁻¹,RSD=1.22%(n=6)。

2.7 加样回收率

精密称取葛根素对照品 10.32 mg,置于 50 mL 量瓶中,加水溶解并定容至刻度,即得浓度为 206.4 μg·mL⁻¹的对照品贮备液。精密称取已知葛根素含量的心安宁片片粉 6 份,每份约相当于 1/2 平均片重,分别精确加入上述葛根素对照品贮备液 4.0 mL,按“2.3”项“供试品溶液制备”方法制备,依“2.4”项下测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率实验结果(n=6)

Tab 2 Recovery of puerarin (n=6)

样品 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
834.33	825.60	815.28	98.75	100.15	1.55
845.47	825.60	827.91	100.28		
857.70	825.60	819.99	99.32		
835.43	825.60	813.71	98.56		
834.65	825.60	843.93	102.22		
839.35	825.60	840.21	101.77		

注:该批号(011102)心安宁片平均含量为 3.92 mg·g⁻¹

Note: The average content of Xinanning(011102) is 3.92 mg·g⁻¹

3 讨论

3.1 溶剂的选择

本实验曾用蒸馏水、体积分数为 30%乙醇作溶剂分别对心安宁片片粉进行超声提取,发现用这两者作溶剂均可得到峰形较好的色谱峰;但用蒸馏水作溶剂,所提得的样品量更多,且与乙醇相比不易挥发,价格便宜。因此,本实验确定用蒸馏水作为超声提取的溶剂。

3.2 超声时间的选择

在供试品制备过程中,将片粉加入适量蒸馏水后分别用超声仪超声 20,40,60 min。结果表明:超声 20 min 时,所提得的样品量最大;超声 40 min 和超声 60 min 的提取量基本相同,因此超声的时间选择为 20 min。

3.3 本实验采用反相高效液相色谱法测定心安宁片中葛根素的含量,被测组分的分离较好,片中的其他成分不形成干扰,而且方法操作简便,结果准确,重现性好,灵敏度高,可作为实际生产中质量控制的方法。

收稿日期:2002-01-16