

反相高效液相色谱法测定感冒清热颗粒中葛根素的含量

于立佐, 李正国 (济宁市药品检验所, 山东 济宁 272025)

摘要:目的 测定感冒清热颗粒中葛根素的含量。方法 采用 RP-HPLC 法, 色谱柱为 ODS- C_{18} 柱, 流动相为甲醇-1.4% 醋酸溶液 (22:78)。测定波长为 250 nm。结果 平均加样回收率为 99.59%, RSD=2.3% ($n=5$)。结论 方法简便可行, 重现性好, 其他成分无干扰。提供了感冒清热颗粒的质量控制方法。

关键词:感冒清热颗粒; 葛根素; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917.7.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)03-0248-02

Determination of puerarin in Ganmao Qingre grains by RP-HPLC

YU Li-zuo, LI Zheng-guo (Jining Institute for Drug Control, Jining 272025, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine puerarin in Ganmao Qingre grains. **METHODS** C_{18} column, detection wavelength 250 nm and the mobile phase of methanol-1.4% acetic acid (22:78) were used in RP-HPLC. **RESULTS** The recovery of the method was 99.59% (RSD=2.3%, $n=5$). **CONCLUSION** This method is simple, accurate and can be used for quality control of Ganmao Qingre grains.

KEY WORDS: Ganmao Qingre grains; puerarin; RP-HPLC

感冒清热颗粒是临床常用中成药之一, 收载于中国药典 2000 年版一部, 由葛根、荆芥穗、防风等 11 味中药组成, 具有疏风散寒、解表清热之功。用于风寒感冒、头痛发热、恶寒身痛等症。葛根素是感冒清热颗粒中葛根的主要有效成分之一。原质量标准中无含量测定项目, 为有效控制感冒清热颗粒的内在质量, 本实验采用 RP-HPLC 法测定感冒清热颗粒中葛根素的含量, 分离效果好, 结果满意。

1 仪器与药品

SP-8800 高效液相色谱仪, SP-200 紫外检测器, SP-4400 数据处理机 (美国); SBC-100 超声波处理器 (济宁市超声波仪器厂); 葛根素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 0752-9605); 感冒清热颗粒 (11 批均为市售品); 水为重蒸馏水, 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: ODS- C_{18} 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-1.4% 醋酸溶液 (22:78); 柱温: 室温; 流速: 1.2 mL/min; 测定波长: 250 nm; 色谱柱的塔板数按葛根素计算, 应大于 3000; 定量方法: 外标一点法。

2.2 可行性考察

取葛根素对照品适量加 30% 乙醇制成每 1 mL 含 0.05 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按感冒清热颗粒处方及工艺制备不含葛根的模拟空白样品, 取感冒清热颗粒及其模拟空白样品适量, 按“样品测定”项下方法分别进行测定, 绘制色谱图, 结果在与葛根素对照品色谱峰相同保留时间处无干扰峰, 可知其他成分不干扰葛根素测定。见图 1。

2.3 线性关系考察

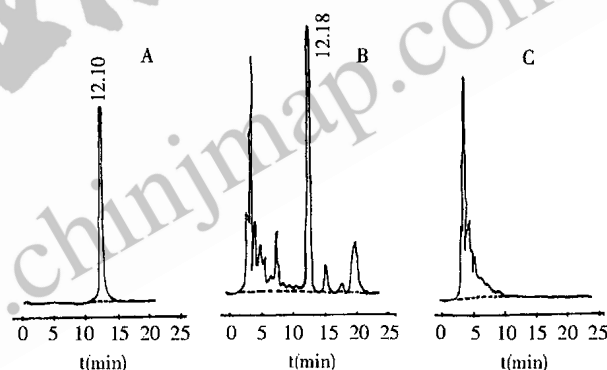


图 1 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms

A. 对照品 B. 感冒清热颗粒 C. 模拟空白

1. 葛根素 1. puerarin

精密称取葛根素对照品 12.60 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。各进样 10 μ L, 测定峰面积。以进样量 X (μ g) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标作图, 得回归方程为 $Y = 6692 + 11684.668X$, $r = 0.9999$ 。结果表明在 0.126 ~ 1.26 μ g 范围内线性关系良好。

2.4 稳定性试验

取感冒清热颗粒, 照“2.7”项下方法制备供试品溶液, 每隔 1.5 h 进样测定一次, 共测 9 次, 峰面积 RSD 为 1.02%, 表明样品溶液在 12 h 之内稳定。

2.5 精密度试验

精密吸取葛根素对照品溶液 (0.05 mg/mL) 10 μ L, 连续进

样 5 次,峰面积 RSD =1.47%。

2.6 重复性试验

取同一批号(8号)样品 5 份,分别照“样品测定”项下方法测定,结果葛根素含量(mg/g)分别为 1.274,1.284,1.267,1.256,1.284,平均值为 1.274,RSD =0.93%。

2.7 样品测定

取本品研细(过 65 目筛,混匀),精密称取约 2.0g,置具塞三角烧瓶中,精密加 30%乙醇 50mL,称定重量,超声处理 20min(提取功率大于 250W,频率大于 40kHz),放至室温,用 30%乙醇补足重量,摇匀,以 0.4 μ m 的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。另取葛根素对照品,加 30%乙醇制成每 1mL 含 0.05mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪,测定,即得。见表 1。

2.8 加样回收试验

精密称取已知含量的感冒清热颗粒约 1.0g,精密加入葛根素对照品一定量,照“样品测定”项下方法测定,结果平均加样回收率为 99.59%,RSD 为 2.34%。见表 2。

3 讨论

3.1 曾采用 30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、甲醇为提取溶剂,制备供试品溶液,测定感冒清热颗粒中葛根素的含量,结果以本实验提取溶剂为佳。

3.2 曾选用不同比例的水-甲醇和不同比例的水-正丁醇作流动相,通过优化选择,结果以本实验选择的流动相分离效果较好。

表 1 样品测定结果

Tab 1 Results of sample determination

样品编号	含量 (mg/g)			平均值 (mg/g)	RSD (%)
1	1.172	1.138	1.18	1.163	1.92
2	1.091	1.062	1.087	1.080	1.45
3	0.964	0.977	0.977	0.973	0.71
4	0.750	0.741	0.738	0.743	0.84
5	0.742	0.747	0.746	0.745	0.40
6	0.903	0.886	0.898	0.896	0.98
7	0.814	0.808	0.825	0.816	1.06
8	1.274	1.267	1.284	1.275	0.67
9	0.523	0.520	0.525	0.523	0.48
10	0.556	0.556	0.567	0.560	1.13
11	0.389	0.381	0.398	0.389	2.10

表 2 加样回收率试验结果(n=5)

Tab 2 The results of recovery test(n=5)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.0011	0.9024	1.8797	97.36		
1.1362	0.9024	2.0500	101.26		
1.1164	0.9024	2.0260	100.8	99.59	2.3
1.1512	0.9024	2.0692	101.73		
1.0031	0.9024	1.8766	96.8		