

• 论著 •

高效液相色谱法测定心安宁片中葛根素的含量

谭生建 陈培让 曹 晔 王建社 常良才*
(国防科工委药检所 北京 9702 信箱 100101)

摘要 建立 HPLC 测定心安宁片中葛根素含量的方法。乙醇水浴加热回流提取,反相高效液相色谱分离测定。葛根素与其相邻峰的分度是 1.5;理论版数按葛根素峰计算是 1510;葛根素进样线性范围是 0.2640~2.640 μg , $r=0.9999$;平均回收率 100.7%。

关键词 高效液相色谱 心安宁片 葛根素

Determination of the Pueraria Content in “Xinanning Pian” by RP-HPLC

Tan Shengjian, Chen Peirang, Cao Ye, Wang Jianshe, Chang Liangcai
(Institute for Drug Control of Commission of Science Technology and Industry for National Defence, Beijing, 100101)

Abstract: A quantitative method for the determination of the pueraria content in Xinanning Pian was established. The sample was extracted with alcohol by reflux in a water bath. The resolution of pueraria and the adjacent peak was 1.5 as determined by RP-HPLC. The number of theoretical plates calculated by pueraria peak was 1510. The standard curve was linear in the range of 0.264~2.640 μg and the correlation coefficient was 0.9999. The average recovery was 100.7%. The method is simple and accurate and thus is satisfactory for the determination of the pueraria content in Xinanning Pian.

Key words: HPLC, Xinanning Pian, Puerarin

心安宁片由葛根、制何首乌、山楂、珍珠粉 4 味药材加工而成,收载于中华人民共和国卫生部药品标准第四册。功能养阴宁心,化痰通络,降血脂。用于血脂过高,心绞痛以及高血压引起的头痛,头晕,耳鸣,心悸。药理研究表明,葛根素是心安宁片中的有效成分,有肯定的治疗作用^[1~6]。部颁标准中以性状,检查等评价心安宁片的质量。曾有文献^[7~9]报道用高效液相色谱法测定葛根素的含量,但

心安宁片中葛根素的含量测定方法未见报道。本试验研究了反相高效液相色谱测定心安宁片中葛根素含量的方法,报道如下:

1 仪器与试剂

日本岛津公司 LC-6A 液相色谱泵;SIL-6B 自动进样器;SPD-6AV 紫外-可见分光光度检测器;C-R6A 色谱数据处理机;试验用药材购自北京市药材公司并经本所鉴定,符合药典品种。葛根素对照品购自中国人民解

* 中国人民解放军第二炮兵药品检验所

放军药品医疗器械检验所;心安宁片由中国人民解放军二炮药品检验所及本所制备;甲醇、乙醇均为优级纯。对照品储备液为0.4400mg/ml的葛根素乙醇溶液。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Shim-pack CLC-ODS 色谱柱(6mmID×150mm, 粒径 5 μ m), 北京分析仪器厂 ODS 保护柱(5mmID×50mm, 粒

径 5 μ m), 柱温 35 $^{\circ}$ C; 流动相: 甲醇-水(258 : 752), 流速是 1.2ml/min; 检测波长 306nm。记录纸速 1mm/min。

2.2 可行性试验 量取对照品储备液适量, 加乙醇稀释成适当浓度, 进样; 按心安宁片处方配比制备不含葛根的阴性样品。取心安宁片及其阴性样品适量, 分别按样品测定方法提取, 进样, 绘制色谱图, 结果见图 1~3。

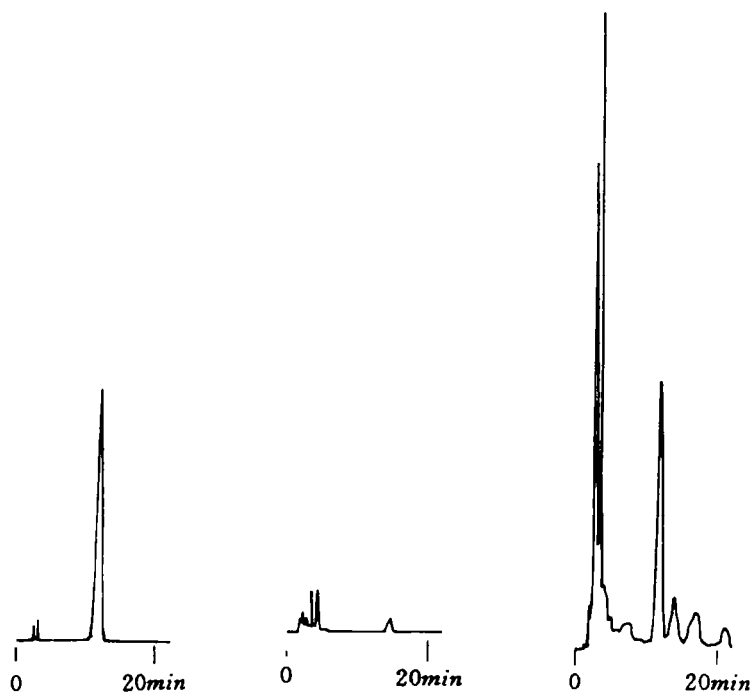


图1 葛根素色谱峰

图2 心安宁片(葛根)阴性样品色谱峰

图3 心安宁片色谱峰

图3中1号峰为葛根素

由图可知葛根素的峰保留时间约为12min; 葛根素与其相邻峰的分度是1.5; 以葛根素峰计算理论板数是1510。上述色谱条件可用于心安宁片中葛根素的含量测定。

2.3 线性关系 分别精密量取对照品储备液适量, 用乙醇稀释成适当浓度, 进样。进样量分别是0.2640、0.5280、0.7920、1.050、1.320和2.640 μ g。记录峰面积, 其均值(n=3)分别是126289.6、256825.0、390729.3、519567.3、635512.8和1288741.8。葛根素峰面积均值X对进样量Y(μ g)线性回归, 得

回归方程为: $Y = 0.0000020490X + 0.000070657$; $r = 0.9999$ 。

2.4 仪器精密度和方法重复性 取一样品溶液置自动进样器中, 5h内重复进样(n=5), RSD%是0.45。同一样品每天取样测定一次(n=3), RSD%是2.3。

2.5 提取条件 采用乙醇为溶剂, 进行水浴加热回流提取试验。回流10、30、60、90min考察, 以90min的提取率为100%计算, 回流10min提取率约为93%; 30和60min提取率分别是99.06%和101.0%。取回流1h测定

含量后的滤渣按样品测定方法回流、滤过、洗滤。将滤液浓缩 20 倍,进样 10 μ l,测得残留量约为样品测定量的 0.3%。证明 60min 可提取完全,因此确定水浴加热回流提取 1h。

2.6 加样回收 按样品测定项下方法,精密

称取同一批心安宁片 7 份。其中 3 份精密加入 2.130mg、3 份精密加入 4.260mg 葛根素对照品,另外 1 份做空白。各份均依样品测定项下方法操作,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

序号	心安宁片中葛根素含量(mg)	加入葛根素量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.990	2.130	5.981	93.47		
2	3.990	2.130	6.119	99.95		
3	3.990	2.130	6.189	103.2	100.7	4.2
4	3.990	4.260	8.232	99.58		
5	3.990	4.260	8.350	102.3		
6	3.990	4.260	8.491	105.7		

2.7 样品测定 取心安宁片 20 片,用潮湿的纱布擦净糖衣,凉干。精密称定,求得平均片重。研细。取其细粉适量(约相当 1 片的重量,约含葛根粉 0.21g),精密称定。置 100ml 磨口三角瓶中,加乙醇 50ml,水浴加热回流提取 1h,滤入 100ml 量瓶中。滤渣用约 48ml 乙醇分别洗滤 6 次,洗滤液并入同一量瓶中,放冷至室温,加乙醇至刻度,摇匀。取少量用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,进样 10 μ l,记录葛根素色谱峰面积,外标法计算含量。测定了 3 批样品,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

样品批号	含量(mg/片)	RSD%(n=3)
96 03 22	3.995	0.60
96 04 16	7.480	1.8
96 04 18	7.190	0.45

3 讨论

3.1 经稳定性试验观察,样品液在室温下(约 18 $^{\circ}$ C)置棕色量瓶中,每隔 2h 测定一次,测至 6h,含量(mg/片)分别是 7.190、7.325 和 7.303。RSD%=1.0。证明样品液中葛根

素含量至少在 6h 内稳定。

3.2 根据我们以往研究经验,含葛根药材原粉的制剂,加乙醇超声提取不仅耗时较长(达 90min)噪声大而且难以完全提取。因此,虽然超声提取方法简便,也未进行此项提取试验。

3.3 葛根素对照品(编号 0752-9504,中国药品生物制品检定所提供)的色谱图在 3min 左右有 2 个杂质峰,经面积归一化计算求得其纯度为 98.2%,因此计算未加校正。

3.4 曾经测定了 4 批葛根中葛根素的含量,不同批次间的含量差别较大,含量分布范围约为 1.4%-5.8%。据此计算并考虑 5%测定误差,初步认为心安宁片中葛根素[CHO]的含量应不低于 2.8mg/片。

参考文献

[1]陈沪生. 山东医科大学学报 1987;(3):28
 [2]曹永荣. 新药与临床 1988;(2):72
 [3]王丽华. 山东医药 1990;(4):5
 [4]杨国君. 中西医结合杂志 1990;(2):82
 [5]任桂芝. 航天医学与医学工程 1993;(2):115
 [6]王晓青,付静. 北京中医药大学学报 1994;17(3)

: 39

[7]房其年. 药学学报 1983;(9): 695

[8]仲英,丁杏苞,左春旭. 中草药 1992,(6): 294

[9]张伟,栗晓黎,田金改等. 药物分析杂志 1994;

14(4): 43

(收稿:1996—05—03)