

• 论著 •

高效液相色谱法同时测定 根痛平冲剂中芍药甙和葛根素的含量

王铁军 郭绪林(北京医科大学药学院 北京 100083)

王宏洁 沈欣(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

摘要 采用反相高效液相色谱法,建立了一种可同时测定根痛平冲剂中芍药甙和葛根素含量的方法。芍药甙和葛根素的平均回收率分别为 99.11%,97.84%;RSD 分别为 1.83%,1.91%。该法快速、准确,操作简便,可用于产品的质量控制。

关键词 根痛平冲剂 芍药甙 葛根素 高效液相色谱

Quantitative Determination of Paeoniflorin and Puerarin in Gentongping Granule by HPLC

Wang Tiejun, Guo Xulin (School of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing, 100083)

Wang Hongjie, Shen Xin (Institute of Chinese Materia Medica,
China Academy of TCM., Beijing, 100700)

Abstract: This paper described a HPLC method where by paeoniflorin and puerarin in Gentongping granule were simultaneously determined. The result showed that this method was convenient, rapid and accurate. The average recoveries of paeoniflorin and puerarin were 99.11% and 97.84% respectively and relative standard deviations were 1.83% and 1.91% respectively. Therefore, the method can be used for the quality control of Gentongping granule.

Key words: Gentongping granule, Paeoniflorin, Puerarin, HPLC

根痛平冲剂由白芍、葛根、牛膝、伸筋草、红花、没药、乳香组成。在临床上对风寒阻络所致神经根型颈椎病有良好的治疗作用。现行标准只对制剂中芍药甙的含量进行定量控制^[1]。葛根可治疗颈项强痛^[2],对本方的临床疗效有重要作用,因此对其主要成分葛根素进行定量监控是有意义的。为提高产品的质量,确保临床疗效,本文研究并建立了适于生产的快速、准确、简便,可同时测定制剂中芍药甙和葛根素含量的方法。

1 实验材料

1.1 药品和试剂 芍药甙及葛根素对照品由中国药品生物制品鉴定所提供;甲醇、醋酸

为分析纯,水为重蒸水;根痛平冲剂为北京华龙制药厂生产,批号 950831, 951016, 951208。

1.2 仪器 高效液相色谱仪为美国光谱物理公司产 SP-8810 型,检测器 SP-100 型, JS-3030 型色谱工作站。

2 实验方法与结果

2.1 色谱分析条件 YWG-C₁₈ 反相柱(4.6mm×220mm),粒度 10μm;流动相甲醇-水-36%醋酸(24:73:3);流速 1ml/min;柱温 40℃;检测波长 240nm。理论板数按芍药甙峰计不低于 1600。

2.2 标准曲线的测定 分别精密称取芍药

芍药对照品 18.45mg, 葛根素对照品 5.03mg, 置同一 25ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取该溶液 1ml, 用甲醇定容至 10ml, 作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 3, 6, 9, 12, 15 μ l, 按上述色谱条件测定峰面积(图 1)。分别以峰面积积分值为纵坐标, 对照品进样量(μ g)为横坐标, 数据由计算机处理并绘制标准曲线, 得到 2 条通过原点的直线, 其回归方程: 芍药 $Y = 9761.95 + 1435069.95X$, $r = 0.9997$; 葛根素 $Y = -12627.62 + 4813862.07X$, $r = 0.9995$ 。结果表明: 进样量芍药在 0.221~1.107 μ g, 葛根素在 0.060~0.302 μ g 范围内, 与峰面积均呈良好的线性关系。葛根素和芍药的保留时间分别为 11.1、12.9min。

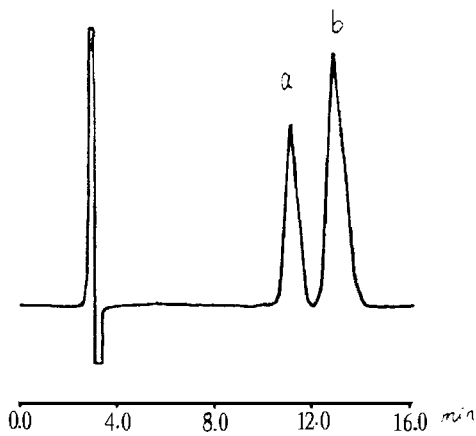


图 1 对照品的 HPLC 图谱

a. 葛根素 b. 芍药

2.3 精密度测定 精密量取对照品溶液 10 μ l, 重复进样 5 次, 芍药与葛根素峰面积积分值的相对标准偏差分别为 1.31%, 1.34%。

2.4 供试品溶液的制备与测定 取本品细粉约 1.1~1.2g, 精密称量, 置三角瓶中, 精密加入甲醇 25ml, 超声提取 25 分钟, 滤过, 取续滤液 10ml 通过一已处理好的中性氧化铝柱(100~120 目, 0.5g, 内径 1cm), 并用甲醇 20ml 洗脱, 收集通过液和洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并转移至 10ml 量瓶内, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,

滤液作为供试品溶液。吸取 10 μ l, 注入高效液相色谱仪测定, 结果见图 2。

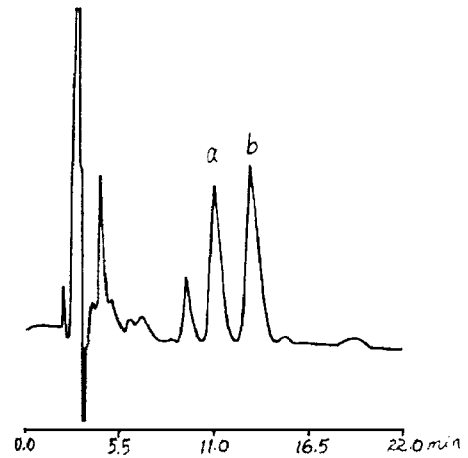


图 2 供试品的 HPLC 图谱

2.5 空白对照溶液的制备与测定 按处方比例及工艺自制不含白芍和葛根的空白样品, 按供试品溶液的制备方法制备, 测定。结果空白无干扰, 见图 3。

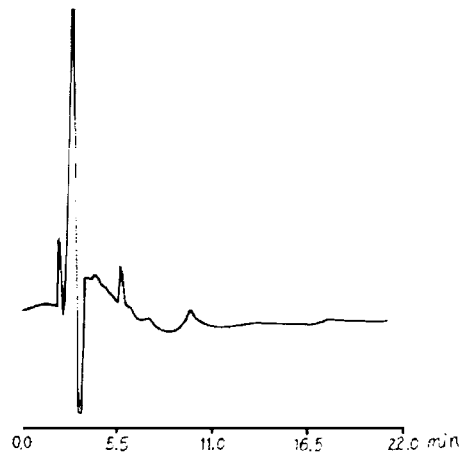


图 3 空白对照的 HPLC 图谱

2.6 加样回收率的测定 取已测知含量的样品 0.45~0.65g, 精密称定, 置三角瓶中, 加入对照品浓溶液 0.6~1.4ml (芍药 0.771mg/ml; 葛根素 0.210mg/ml) 挥尽溶剂后, 按供试品溶液的制备方法制备, 测定, 结果见表 1。

2.7 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ l 依法测定, 计算样品中芍药及葛根素的含量, 三批样品测定结果列于表 2。

3 讨论

3.1 经紫外全波长扫描显示芍药在

表 1 加样回收率测定

芍药甙						葛根素					
样品量	添加量	测出量	回收率	\bar{x}	RSD	样品量	添加量	测出量	回收率	\bar{x}	RSD
mg	mg	mg	%	%	%	mg	mg	mg	%	%	%
0.638 6	0.462 6	1.094 7	98.59			0.174 7	0.126 0	0.296 0	96.27		
0.699 6	0.616 8	1.326 9	101.70			0.191 4	0.168 0	0.359 1	99.82		
0.774 0	0.771 0	1.545 2	100.03	99.11	1.83	0.211 8	0.210 0	0.412 4	95.52	97.84	1.91
0.826 3	0.925 2	1.736 0	98.32			0.226 1	0.252 0	0.473 9	98.33		
0.866 4	1.079 4	1.912 7	96.93			0.237 1	0.294 0	0.528 9	99.25		

表 2 含量测定结果(n=3)

批号	芍药甙		葛根素	
	\bar{x}	RSD	\bar{x}	RSD
	mg/g	%	mg/g	%
950 831	1.366	1.69	0.236	1.94
951 016	1.460	1.09	0.379	1.98
951 208	1.407	1.63	0.385	1.43

230nm, 葛根素在 250nm 处有最大吸收, 且两者在 236~245nm 处均有较强的吸收(图 4), 考虑样品中葛根素的含量较低, 故选用 240nm 作为检测波长。

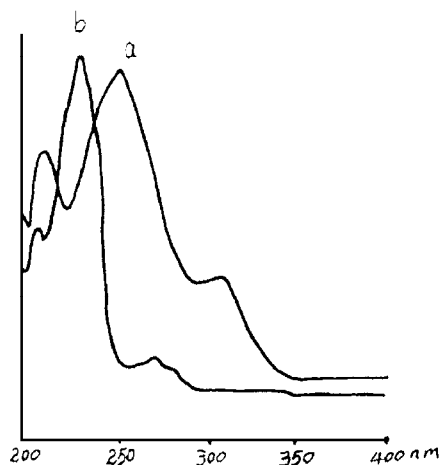


图 4 紫外吸收图 a. 葛根素 b. 芍药甙

3.2 对芍药甙及葛根素的纯度进行了检查, 进样量分别为 9.73、9.52 μg , 芍药甙的色谱图未见杂峰, 葛根素的色谱图有二个小杂峰, 用归一化法计算, 得葛根素对照品的含量为 99.13%, 符合含量测定对对照品的要求。

3.3 芍药甙和葛根素在水、甲醇、乙醇中溶解度都很大, 经比较以甲醇超声提取操作简便, 回收率高。曾用甲醇超声提取液直接进样测定, 因成分复杂难于得到满意的分离效果。采用 D₁₀₁、DA₂₀₁、DM-130 等不同型号大孔树脂试验, 结果因大孔树脂对葛根素的吸附力弱, 而不适用。比较硅胶和中性氧化铝对样品的纯化能力, 结果以氧化铝除杂效果更佳, 故文中采用氧化铝纯化样品。

参考文献

- [1] 王铁军, 郭绪林, 张京平. 中国中药杂志 1997; 22(2): 99
 [2] 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. 第一册. 北京: 人民卫生出版社, 1979: 563

(收稿: 1996-11-20)