

HPLC 测定柴银口服液中葛根素的含量

李翔, 刘皈阳*, 马建丽, 周亮

(解放军总医院第一附属医院药剂药理科, 北京 100048)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 法测定柴银口服液中葛根素的含量。方法: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水(25:75), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 30 °C。结果: 在本试验条件下, 葛根素与其他色谱峰分离良好, 在 0.020 64 ~ 0.825 6 μg 与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率 100.44%, RSD 1.45% ($n=6$)。结论: 方法简便快速、专属性强、灵敏度高、重复性好, 可用于柴银口服液的质量控制方法。

[关键词] 柴银口服液; 葛根素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0131-03

[doi] 10.11653/syjf2013110131

Determination of Puerarin in Chaiyin Oral Solution by HPLC

LI Xiang, LIU Gui-yang*, MA Jian-li, ZHOU Liang

(Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of puerarin in Chaiyin oral solution. **Method:** The Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, the mobile phase consisted of methanol-water (25:75); the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the detection wavelength was set at 250 nm; the column temperature was kept at 30 °C. **Result:** The puerarin peak was well separated with other peaks, and a good linear correlation was observed within the range of 0.020 64-0.825 6 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 100.44% with RSD 1.45% ($n=6$). **Conclusion:** The method is rapid and simple, it can be used for the quality control of Chaiyin oral solution with good selectivity, sensitivity and repeatability.

[Key words] Chaiyin oral solution; puerarin; HPLC

柴银口服液由柴胡、金银花、黄芩、葛根、荆芥、青蒿、连翘、桔梗、苦杏仁、薄荷、鱼腥草等 11 味中药组成, 具有清热解毒、利咽止咳的功效, 用于上呼吸道感染外感风热证, 症见发热恶风, 头痛、咽痛, 汗出, 鼻塞流涕, 咳嗽, 舌边尖红, 苔薄黄等。柴银口服液中连翘苷、黄芩苷、绿原酸的含量测定方法已经有文献报道, 但其中葛根素含量的测定方法尚未见文献报道^[1-3]。方中葛根具有解肌退热的功能, 可用于外感发热头痛^[4]。葛根素为葛根的主要药效成

分之一, 对其进行含量测定, 可以保证制剂质量的有效性^[5-10]。本试验进行柴银口服液中葛根主要成分葛根素的含量测定, 方法快速简便, 结果准确可靠, 可以为进一步完善制剂的质量控制和评价方法提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(包括四元泵, VWD 检测器, 自动进样器, ChemStation 化学工作站), Mettler AE240 型电子天平(梅特勒公司); 葛根素对照品(批号 110752-200511, 中国药品生物制品检定所), 柴银口服液(规格 20 mL/支, 鲁南厚普制药有限公司, 批号 11113003, 00512010, 00512028), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱

[收稿日期] 20120913(013)

[第一作者] 李翔, 主管药师, 博士, 从事医院药学和药物分析学研究, Tel: 13717533608, E-mail: lxbj@hotmail.com

[通讯作者] * 刘皈阳, 副主任药师, 从事医院药学研究, E-mail: liuguoyi@gmail.com

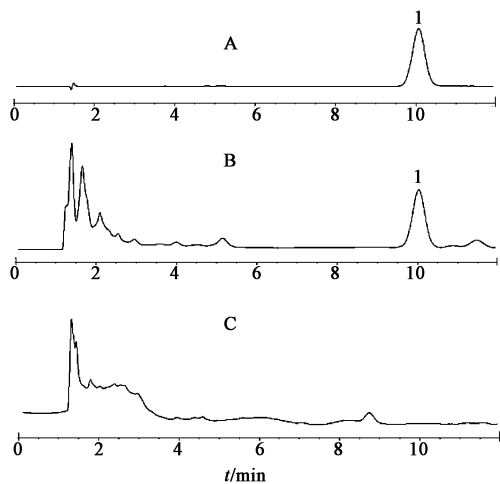
(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-水 (25:75), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 30 ℃。在此条件下, 葛根素与样品中其他色谱峰分离良好, 保留时间约为 10 min, 理论塔板数按葛根素峰计算不低于 5 000。

2.2 溶液的制备 对照品溶液: 精密称取葛根素对照品 10.32 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 即得 206.4 mg·L⁻¹ 对照品储备溶液。精密量取 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 即得 20.64 mg·L⁻¹ 的对照品溶液, 置 4 ℃ 冰箱保存。

供试品溶液: 精密量取本品 0.5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.22 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

阴性空白对照溶液: 按处方比例及生产工艺制备缺葛根的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性空白对照溶液。

2.3 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图。结果显示, 阴性对照对葛根素的测定无干扰。色谱图见图 1。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性空白对照; 1. 葛根素

图 1 对照品及样品 HPLC 色谱

2.4 线性关系考察 精密吸取葛根素对照品溶液 1, 2, 5, 10, 20, 40 μL, 注入液相色谱仪。以葛根素进样量 (μg) 为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 3\ 897.52X + 1.20$ ($r = 0.999\ 9, n = 6$)。结果表明, 葛根素在 0.020 64 ~ 0.825 6 μg 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL, 按 2.1 项下色谱条件, 连续重复进样 6 次, 记录峰面积。结果葛根素峰面积的 RSD 0.19% ($n = 6$), 表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液 (批号 11113003), 在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按 2.1 项下色谱条件, 分别进样 5 μL, 记录峰面积。结果葛根素峰面积 RSD 1.63% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一样品 6 份 (批号 11113003), 按 2.2 项下方法分别制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 分别进样 5 μL, 测定含量。结果葛根素的平均含量为 0.844 6 g·L⁻¹, RSD 1.79% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密量取已知含量为 0.844 6 g·L⁻¹ 的柴银口服液样品 6 份 (批号 11113003), 精密加入 206.4 mg·L⁻¹ 葛根素对照品储备溶液 1 mL, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 分别进样测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验 ($n = 6$)

取样量 /mL	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	$\bar{X}/\%$	RSD /%
0.25	0.211 2	0.206 4	0.418 5	100.45	100.44	1.45
0.25	0.211 2	0.206 4	0.413 5	98.03		
0.25	0.211 2	0.206 4	0.416 9	99.68		
0.25	0.211 2	0.206 4	0.420 1	101.23		
0.25	0.211 2	0.206 4	0.419 6	100.99		
0.25	0.211 2	0.206 4	0.422 2	102.25		

2.9 样品测定 取 3 批柴银口服液样品, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 分别进样测定, 计算葛根素的含量。结果批号为 11113003, 00512010, 00512028 的样品中葛根素含量分别为 0.844 6, 0.823 5, 0.835 7 g·L⁻¹, RSD 分别为 1.79%, 1.99%, 2.27% ($n = 3$)。

3 讨论

比较水、30% 乙醇、乙醇、甲醇作为样品的稀释溶剂, 可以发现采用乙醇或甲醇稀释样品时会使样品出现少量絮状沉淀, 水和 30% 乙醇稀释后仍为红棕色澄清溶液。将使用 4 种不同稀释溶剂的样品溶液进样分析, 发现其中葛根素的含量无明显差别, 但甲醇溶液的色谱图中杂质色谱峰最少, 故选择甲醇作为稀释溶剂。

通过比较甲醇-水和乙腈-水等不同流动性体系对葛根素的分离效果, 发现 2 种体系均满足葛根素含量测定的系统适用性要求, 故从经济性的角度考虑, 确定甲醇-水作为色谱流动相体系。

HPLC-DAD 同时测定心通口服液中 4 种成分

孙媛^{1*}, 李继美², 左石²

(1. 南京医科大学附属淮安第一医院, 江苏 淮安 223300;

2. 淮安市第二人民医院, 江苏 淮安 223303; 3. 淮安市第三人民医院, 江苏 淮安 223304)

[摘要] 目的: 建立同时测定心通口服液中葛根素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、柚皮苷及淫羊藿苷含量的方法。方法: 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水为流动相, 梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 λ₁ = 250 nm(检测葛根素), λ₂ = 260 nm(检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷), λ₃ = 283 nm(检测柚皮苷), λ₄ = 270 nm(检测淫羊藿苷)。结果: 葛根素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、柚皮苷及淫羊藿苷的线性范围分别为 0.441 ~ 11.0, 0.031 2 ~ 0.780, 0.186 ~ 4.66, 0.134 ~ 3.47 μg, 平均加样回收率分别为 98.53%, 98.03%, 98.64%, 99.16%。结论: 方法操作简便, 快速, 重复性好, 可作为该产品质量控制的方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 心通口服液; 葛根素; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 柚皮苷; 淫羊藿苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0133-04

[doi] 10.11653/syfy2013110133

Simultaneous Determination of Four Components in Xintong Oral Liquid by HPLC-DAD

SUN Yuan^{1*}, LI Ji-mei², ZUO Shi³

(1. Huaian First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Huaian 223300, China;

2. Huaian Second People's Hospital Pharmacy Department, Huaian 223303, China;

3. Huaian Third People's Hospital Pharmacy Department, Huaian 223304, China)

[收稿日期] 20121226(670)

[通讯作者] * 孙媛, 主管药师, 从事临床药学服务, Tel: 13852306633, E-mail: sunyuan6622@163.com

从 3 批次柴银口服液中葛根素含量的测定结果, 可以看出不同批次的葛根素含量较为一致, 将其作为柴银口服液质量控制与评价的指标之一, 具有较强的专属性, 能够有效保证柴银口服液的一致性和稳定性。

[参考文献]

- [1] 蔡清宇, 唐慧慧, 康琛, 等. HPLC 测定柴银口服液中连翘苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 94.
- [2] 唐慧慧, 蔡清宇. 高效液相色谱法测定柴银口服液中绿原酸含量[J]. 解放军药学学报, 2011, 27(5): 442.
- [3] 马桂华, 王瑞成, 徐桂花. HPLC 测定柴银口服液中黄芩苷含量[J]. 山东医药工业, 2001, 20(5): 9.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S].

北京: 中国医药科技出版社, 2010: 312.

- [5] 黄樱华, 黄月纯, 王祝彬, 等. 葛根骨康宁颗粒中葛根素的含量测定研究[J]. 中国药师, 2012, 15(2): 186.
- [6] 牛晓静, 施钧瀚. HPLC 同时测定安渴胶囊中马钱苷和葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 90.
- [7] 范云飞, 梁爱君, 贾永慧, 等. 冠舒滴丸中葛根素的含量测定[J]. 解放军药学学报, 2012, 28(2): 159.
- [8] 李雪晴, 文爱东. HPLC 测定康尔肤胶囊中葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 137.
- [9] 温金莲, 郭丽冰, 周清, 等. 保济丸中葛根素的含量测定及灭菌方法评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 1.
- [10] 蔡绍东, 吴小红. HPLC 法同时测定三多丸中葛根素和芒柄花素含量[J]. 中药材, 2011, 34(8): 1298.

[责任编辑 顾雪竹]