

# HPLC 测定柴芩软胶囊中葛根素的含量

闫春风, 徐晓伟, 李君, 郑艳春, 朱磊\*

(承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000;

河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北 承德 067000)

**[摘要]** 目的: 建立 HPLC 测定柴芩软胶囊中葛根素的含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法进行测定, 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-水-磷酸(25:75:0.2)为流动相, 检测波长 250 nm。结果: 葛根素在 0.559 5~111.9 mg·L<sup>-1</sup> 进样质量浓度与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999 8, n=6$ ), 葛根素平均回收率为 98.85% ( $n=6$  RSD 0.83%); 精密度试验(RSD 0.52%, 重复性试验 RSD 0.57%)。结论: 方法快速、简便、准确、专属性强、重复性好, 可测定柴芩软胶囊中葛根素的含量。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 柴芩软胶囊; 葛根素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0098-03

## Determination of Puerarin in Chaiqin Soft Capsules by HPLC

YAN Chun-feng, XU Xiao-wei, LI Jun, ZHENG Yan-chun, ZHU Lei\*

(1. Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengde 067000, China;

2. Hebei Provincial Engineering Technology Research Center for New Pharmaceutical Excipients in Traditional Chinese Medicine, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC method for determining puerarin in Chaiqin soft capsules. **Method:** The HPLC analysis was performed on a C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol-water-phosphoric acid (25:75:0.2) as mobile phase, detected at the wavelength of 250 nm. **Result:** Puerarin was linear in the range of 0.559 5-111.9 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999 8$ ). The average recovery was 99.85%, RSD 0.83%. the RSDs of precision and reproducibility were 0.52% and 0.57% respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible, which can be used to determine puerarin in Chaiqin soft capsules.

**[Key words]** HPLC; Chaiqin soft capsules; puerarin

柴芩软胶囊系国家食品药品监督管理局 2000 年批准上市的药品。本制剂处方原系吉林省中医院的院内制剂, 由柴胡、黄芩、葛根等药材组成, 具有舒肌解表、辛凉泄热、清透表里等功效。在提取工艺设计中采用水提、醇提 2 种方法, 其中柴胡、黄芩药材为水提, 葛根等几味药材为醇提。原标准中水提部分测定黄芩苷的含量, 醇提部分没有含量测定, 不利于产品的质量的控制。本文采用了 HPLC 对醇提部分

中的葛根素进行含量测定<sup>[1-4]</sup>, 为全面控制柴芩软胶囊的质量提供了依据。

### 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 紫外检测器, Class-vp 色谱工作站。葛根素(批号 110752-200511)中国药品生物制品检定所提供, 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 柴芩软胶囊(批号 100801, 100802, 100803)承德颈复康药业集团有限公司生产。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-水-磷酸(25:75:0.2)流动相, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 250 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

**[收稿日期]** 20120412(005)

**[第一作者]** 闫春风, 工程师, 从事新药研究, Tel: 0314-2292050, E-mail: 360206786@163.com

**[通讯作者]** \*朱磊, 学士, 助理工程师, 从事新药研发, Tel: 0314-2292311, E-mail: zhulei19820607@163.com

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品贮备液** 精密称取葛根素对照品 0.011 19 g 置 10 mL 量瓶中,加 30% 乙醇溶液溶解并稀释至刻度,既得每 1 mL 含 1.119 mg 葛根素的对照品贮备液。

**2.2.2 葛根素对照品溶液** 精密吸取葛根素对照品贮备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,加 30% 乙醇溶液稀释至刻度,既得每 1 mL 含 55.95  $\mu\text{g}$  的葛根素对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液** 取装量差异项下的内容物,混匀,精密称取 0.5 g,置具塞锥形瓶中,加入 2 g 硅藻土,精密加入 30% 乙醇溶液 50 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,用 30% 乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得。

**2.2.4 阴性对照溶液** 按处方比例制成缺葛根的软胶囊内容物,按供试品溶液的制备方法制备阴性溶液。

**2.3 专属性实验** 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性空白溶液,注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 1。理论塔板数按葛根素峰计算不低于 4 500。相邻两峰的分离度  $> 1.5$ 。

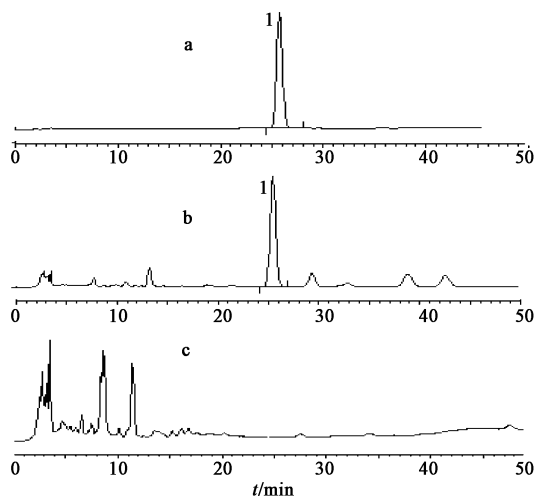
浓度呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 取葛根素对照品溶液,连续进样 6 次,测得葛根素平均峰面积 RSD 0.52%。表明本法有较好的精密度。

**2.6 稳定性试验** 取按 2.2.3 项下制备的供试品溶液,分别在 0,2,4,8,24 h 精密吸取 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,测得葛根素的平均峰面积 RSD 0.55%。表明样品溶液在 24 h 内稳定性好。

**2.7 重复性试验** 取同一批装量项下的内容物,混匀,精密称定 6 份,按 2.2.3 项方法制备供试品溶液,分别精密吸取 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,测得葛根素平均含量为 6.41  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 0.57%。表明本法有很好的重复性。

**2.8 回收率试验** 取同一批装量项下的内容物,混匀,精密称定 6 份,(葛根素含量 6.41  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 分别精密加入葛根素对照品溶液 1.0 mL (1.119 0  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 按 2.2.3 项方法制备供试品溶液并测定,计算回收率,结果见表 1。



a. 对照品;b. 样品;c. 阴性; 1. 葛根素

图 1 柴苓软胶囊中葛根素高效液相色谱

**2.4 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液 0.1,1,5 mL 和对照品贮备液 0.5,0.75,1.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加入 30% 乙醇溶液稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述不同质量浓度的溶液各 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积为横坐标,对照品溶液质量浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 进行线性回归,回归方程为  $Y = 45\ 219X + 48\ 192$  ( $r = 0.999\ 8$ )。结果表明,葛根素在 0.559 5 ~ 111.9  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  峰面积和

表 1 葛根素加样回收率测定

No.	取样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.253 6	1.625 6	1.119 0	2.743 8	99.92		
2	0.243 2	1.558 9	1.119 0	2.656 5	98.09		
3	0.236 4	1.513 5	1.119 0	2.634 6	100.02	98.85	0.83
4	0.250 2	1.603 8	1.119 0	2.702 4	98.18		
5	0.247 1	1.583 9	1.119 0	2.691 1	98.95		
6	0.251 6	1.612 8	1.119 0	2.720 2	98.96		

**2.9 样品含量测定** 取本品 3 批(批号 100801,100802,100803)每批准确称取 3 份,按 2.2.3 项下制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,3 批样品中葛根素质量分数分别为 6.44,6.77,6.44  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

## 3 讨论

比较了不同体积分数的甲醇、乙醇(30%,50%,70%)为溶剂,以回流提取法(30,45,60 min),超声提取法(30,45,60 min)提取效果,结果认为以 30% 乙醇为溶剂,回流 30 min 提取效果最佳。

比较了流动相乙腈-水(11:89)、10% 乙腈-1% 冰醋酸(54:46)<sup>[5]</sup>、甲醇-水冰醋酸(54:46)<sup>[5]</sup>、甲醇-水(25:75)、甲醇-水(27:73)<sup>[6]</sup>、甲醇-水-磷酸

## 壮腰补肾丸的质量标准研究

李君<sup>1,2\*</sup>, 朱磊<sup>1,2</sup>, 闫芳<sup>1,2</sup>, 闫春风<sup>1,2</sup>, 王春民<sup>1,2</sup>, 董海荣<sup>1,2</sup>, 商春丽<sup>1</sup>

(1. 承德颈复康药业集团有限公司, 承德 067000;

2. 河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北承德 067000)

**[摘要]** 目的:研究和修订壮腰补肾丸质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对壮腰补肾丸中的当归、红参、续断、黄芪、五味子进行定性鉴别;采用HPLC测定川续断皂苷Ⅵ的含量。结果:当归、红参、续断、黄芪、五味子的TLC鉴别法专属性强,简单可行。HPLC含量测定,川续断皂苷Ⅵ在 $0.0716 \sim 0.716 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积成良好的线性关系( $r = 0.9999, n = 7$ );川续断皂苷Ⅵ的回收率为99.15%,RSD 1.42%。结论:该法能更为有效的控制壮腰补肾丸的质量。

**[关键词]** 壮腰补肾丸;薄层色谱鉴别;高效液相色谱法;质量标准

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0100-04

## Study on Quality Standard of Zhuangyao Bushen Pills

LI Jun<sup>1,2\*</sup>, ZHU Lei<sup>1,2</sup>, YAN Fang<sup>1,2</sup>, YAN Chun-feng<sup>1,2</sup>,

WANG Chun-min<sup>1,2</sup>, DONG Hai-rong<sup>1,2</sup>, SHANG Chun-li<sup>1</sup>

(1. Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co. Ltd, Chengde 067000, China;

2. New Excipients of Traditional Chinese Medicine Engineering Research Center of Hebei Province, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** Study and revise the quality standard of Zhuangyao Bushen pills. **Method:** *Astragalus membranaceus*, red ginseng, *Dipsacus asper*, Radix Astragal, Schisandrae Chiensis Fructus in Zhuangyao Bushen pills were identified by TLC method and the content of asperosaponin VI was determined by HPLC. **Result:** TLC identification method for *A. membranaceus*, Angelicae, red ginseng, *dipsacus asperoides*, Radix Astragal, Schisandrae Sphenantherae Fructus was simple and feasible with strong specificity. Asperosaponin VI content was linear in the range of  $0.0716 \sim 0.716 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ; the recovery was 99.15%, RSD 1.42%. **Conclusion:** The method can effectively control the quality of Zhuangyao Bushen pills.

**[Key words]** Zhuangyao Bushen pills; TLC; HPLC; quality standards

**[收稿日期]** 20120428(005)

**[第一作者]** 李君,本科,工程师,从事中药质量标准研究,Tel:0314-2292050, E-mail:lizi\_1123\_0@163.com

(25:75:0.2)的分离情况,前几种流动相的峰型拖尾较严重。最终选择甲醇-水-磷酸(25:75:0.2)为流动相,待测物质与杂质完全分离,加入少量磷酸能获得较好的峰形,结果满意。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:313,1139,1186.
- [2] 李春篱,吴超伟,滕忠,等. HPLC法测定花红牌飞燕口服液中葛根素含量[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(5):421.

- [3] 陈曼,史键,王骊丽,等. 反相高效液相色谱法测定康肾颗粒中的葛根素[J]. 色谱, 2006, 24(5):489.
- [4] 李守拙,李云霞. 颈复康冲剂中葛根素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2):101.
- [5] 刘春旭,张颖,刘建勋,等. HPLC法快速测定通脉颗粒中葛根素和阿魏酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):44.
- [6] 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.

[责任编辑 顾雪竹]