

# 葛根素滴眼液的 HPLC 法测定

郭炎荣

(广西壮族自治区人民医院, 广西 南宁 530021)

**摘要:**目的: 建立葛根素滴眼液中葛根素的 HPLC 含量测定方法。方法: 用 Nova-pak C<sub>18</sub> 柱, 流动相为甲醇-水(30:70), 在 250nm 波长处检测。结果: 葛根素浓度在 10~100 $\mu$ g/mL 的范围内线性良好( $r=0.9999$ ), 加样回收率为 99.57%, RSD 为 1.78% ( $n=5$ )。结论: 此法操作简单、结果准确, 可用于葛根素滴眼液的含量测定。

**关键词:** 葛根素; 滴眼液; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0016-02

葛根素滴眼液(puerarin eye drops)是一种新型的抗青光眼药物, 具有降低眼压和改善眼微循环的双重作用<sup>[1]</sup>, 用于慢性单纯性青光眼的治疗, 安全有效。为对其质量进行控制, 我们采用 HPLC 法对其进行含量测定, 结果准确、重复性好。现报道如下。

## 1 仪器与药品

美国 Waters 600 型四元液相色谱泵, Waters 996 型光电二极管阵列检测器, Waters M32 色谱工作站; METTLER AE-240 型电子天平(瑞士); 葛根素对照品(中国药品生物制品检定所, 0752-9905), 经面积归一化法测定含量在 99.03% 以上; 1% 葛根素滴眼液(江苏省药物研究所眼科药理研究中心配制); 甲醇为优级纯试剂, 其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件及系统适用性实验** 色谱柱: Nova-pak C<sub>18</sub> 柱(4 $\mu$ m, 3.9 $\times$ 150mm, Waters 公司产品); 流动相: 甲醇-水(30:70); 检测波长: 250nm; 流速: 1.0mL/min; 室温下测定。理论塔板数按葛根素峰计为 3020。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液制备** 精密称取葛根素对照品 5.0mg, 置 100mL 量瓶中, 加 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.2.2 供试品溶液制备** 精密量取样品 1.0mL, 置 100mL 量瓶中, 加 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1.0mL, 置 10mL 量瓶中, 加 30% 乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

**2.2.3 阴性样品溶液制备** 模拟处方制备不含葛根素的滴眼液, 同法制成阴性样品溶液, 备用。

**2.3 方法可行性考察** 取葛根素对照品溶液、样品溶液和阴性样品溶液在上述色谱条件下测绘 HPLC 图谱。可知葛根素的峰形对称, 附近无杂质峰, 分离结果良好, 且阴性样品对葛根素的测定无干扰。

**2.4 标准曲线的制备** 精密称取葛根素对照品适量, 用 30% 乙醇配成 0.25mg/mL 的溶液, 然后精密量取 0.4、1.0、2.0、3.0、4.0mL 分别置于 10mL 量瓶中, 加 30% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 依次进样 5 $\mu$ L, 记录峰面积, 并以浓度对峰面积进行线性回归分析, 得回归方程为:  $Y=9.4652 \times 10^6 X - 3.7124 \times 10^4$  ( $r=0.9999$ )。结果表明, 葛根素在 0.05 $\mu$ g~0.5 $\mu$ g 的范围内与峰面积呈良好的线性关系。

**2.5 重复性试验** 取同一批号样品, 按样品溶液制备方法操作, 连续进样 5 次, 测得葛根素的 RSD 为 0.68%。

**2.6 精密度试验** 精密吸取 2.2.1 项下对照品溶液进样 10 $\mu$ L, 重复 5 次, 对照品葛根素峰面积积分值的 RSD 分别为 0.94% ( $n=5$ )。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取新配制的供试品溶液, 按样品溶液测定方法每隔 1h 进样测定 1 次, 共测定 5 次。统计结果, 供试品中葛根素含量的 RSD 为 4.03%, 表明供试品溶液在 4h 内稳定。

**2.8 回收率试验** 精密量取已知葛根素含量的供试品 5 份, 分别加入定量的葛根素对照品, 依法测定, 计算葛根素的回收率。结果见表 1。

**2.9 样品测定** 按样品溶液制备方法对 6 批样品进行测定, 结果见表 2。

表 1 加样回收试验结果( $n=5$ )

编 号	样品量 (mg/mL)	加入量 (mg/mL)	测得量 (mg/mL)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1	10.35	5.26	15.56	99.68		
2	10.35	5.26	15.32	98.14		
3	10.35	5.26	15.02	96.22	99.57	1.78
4	10.35	5.26	15.63	100.13		
5	10.35	5.26	16.01	102.56		

表 2 样品测定结果( $n=5$ )

批号	含量(mg/mL)	批号	含量(mg/mL)
980302	10.35	000206	10.81
990612	10.01	000810	9.85
990815	9.94	001215	9.78

### 3 讨论

本文以甲醇-水系统作为流动相,采用 HPLC 法直接测定葛根素滴眼液中葛根素的含量,方法简便快捷,结果可靠。可作为葛根素滴眼液生产的质量控制的参考。

#### 参考文献:

- [1] 严汉英,任宝华.抗青光眼新药葛根素滴眼液的研究进展[J].眼科新进展,2000,20(6):454.