

RP-HPLC 测定葛根芩连片中葛根素的含量

谭生建 邱 夏* 李光慧** 赵炳成 梁玉琴

(国防科工委药检所 北京 100101)

摘要 本文报道 RP-HPLC 测定葛根芩连片中葛根素含量。采用 Shim-Pack CLC-ODS(15cm×6mmID)分析柱;北分厂 ODS 保护柱;流动相:甲醇-水(23:77);流速:1.0ml/min;色谱柱温度:35℃;检测波长:250nm;进样体积 10 μ l;外标法计算含量。理论板数按葛根素峰计算不低于 2000;葛根素浓度在 5 μ g/ml-80 μ g/ml 范围与色谱峰面积呈线性关系;R=0.9999;回收率及 RSD 分别是 97.6%,1.8%。

关键词 RP-HPLC;葛根芩连片;葛根素

Determination of puerarin in Gegen qinlian pian by RP-HPLC

Tan Shengjian, Qiu Xia, Li Guanghui, Zhao Bingcheng, Liang Yuqing

(Institute for Drug Control of Commission of Science

Technology and Industry for National Defence Beijing 100101)

ABSTRACT A quantitative method was developed for the determination of puerarin in Gegen Qing lian Pian by reversed phase HPLC. Chromatographic conditions included column ODS-C₁₀, column temperature, 35℃; detector UV, 250nm; mobile phase, methanol-water (23:77), flow rate 1 ml/min; injecting volume, 10 μ l; external standard. the number of theoretical plates calculated by puerarin peak was no less than 2000. The standard curve was linear in the concentration range of 5 μ g/ml-80 μ g/ml, and correlation coefficient was 0.9999. The average recovery and the relative standard deviation were 97.6% and 1.8%, respectively.

KEY WORDS RP-HPLC, Gegen Qinglian Pian, Puerarin

葛根芩连片由葛根、黄芩、黄连、甘草四味药材加工制成,收载于中国药典 1995 年版一部。功能为解肌,清热,止泻,止痢。用于泄泻痢疾,身热烦渴,下痢臭秽。研究表明,葛根素是葛根中的活性成分,有多种药理作用^[1]。1995 版中国药典以性状、鉴别、检查等项目评价葛根芩连片的质量,未建立含量

测定方法。葛根芩连片剂和汤剂中葛根素的含量测定方法报道有薄层层析-比色法^[2]、薄层层析-紫外分光光度法^[3]。本实验建立了反相高效液相色谱测定葛根芩连片中葛根素含量的方法。该方法操作简便,结果准确。

一、仪器与试剂

日本岛津公司 LC-6B 高效液相色谱仪;分析柱:Shim-Pack CLC-ODS (15cm×6mmID);ODS 保护柱(5cm×5mmID,北京分析仪器厂);流动相:甲醇-水(23:77);

* 北京科技大学

** 解放军第 541 医院

流速: 1ml/min; 检测波长: 250nm; 柱温: 35℃。进样量 10 μ l。实验用药材购自北京药材公司并经本所中药室鉴定, 符合药典品种。葛根素对照品购自卫生部药品生物制品检定所; 葛根芩连片由北京科技大学医院、解放军第 514 医院制备; 甲醇为优级纯。对照品储备液制备: 精密称取葛根素对照品 12mg, 置 25ml 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 置 4℃ 冰箱备用。

二、方法与结果

(一) 可行性实验

取葛根素对照品储备液适量, 用流动相

稀释, 于 200nm - 800nm 波长下扫描, 由光谱图可知葛根素的^{*}最大吸收波长为 250nm。选 250nm 做为检测波长。

量取葛根素对照品储备液适量, 加甲醇稀释成约 20 μ g/ml 对照品溶液; 按处方配比制备不含葛根的葛根芩连片阴性样品。称取葛根芩连片及相当量的其阴性样品适量, 按样品测定项下方法分别进行提取、进样, 记录色谱图, 结果见图 1—3。由图可知, 葛根素对照品的峰保留时间为 16min, 葛根芩连片中其它成分对葛根素的含量测定无影响。

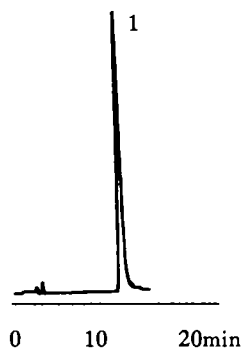


图 1 葛根素对照品溶液色谱图

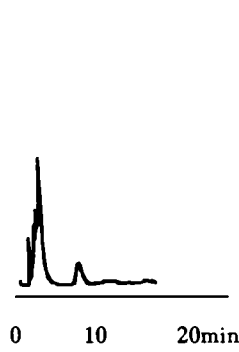


图 2 葛根芩连片阴性溶液 (不含葛根) 溶液色谱图

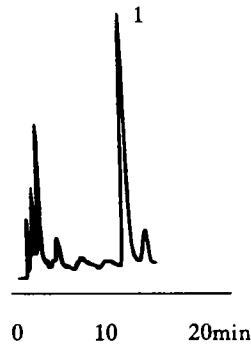


图 3 葛根芩连片溶液色谱图

图中 1 号峰为葛根素的色谱峰

(二) 线性关系

分别精密量取葛根素对照品储备液适量, 置棕色量瓶中, 加甲醇稀释成等比系列溶液。各溶液置自动进样器中, 自动进样, 每一浓度注射 3 次, 记录葛根素峰面积, 求得峰面积均值。峰面积均值对进样浓度进行线性回归, 得回归方程: $y = 0.000060087 \times X + 0.8579$; $r = 0.9999$; 葛根素线性浓度范围: 5 μ g/ml - 80 μ g/ml。

(三) 精密度

分别制备对照品溶液和样品溶液, 置自动进样器中, 重复自动进样 5 次, 结果 RSD 分别是 0.66% ($\bar{x} = 299562$) 和 1.24% ($\bar{x} =$

229704)。

(四) 加样回收

按样品测定项下方法, 精密称取葛根芩连片 5 份。其中, 3 份精密加入葛根素对照品储备液 5ml, 另外 2 份做空白。每份均依样品测定项下方法操作, 求得加样回收率为 97.6%, RSD1.8%。

(五) 样品测定

取葛根芩连片 20 片, 精密称定, 求得平均片重。研细。精密称取葛根芩连片细粉适量 (约相当于葛根 0.1g), 置 150ml 三角烧瓶中, 精密加入甲醇 100ml, 精密称定。水浴加热回流提取 1h, 放冷至室温, 精密称量下准

确补加损失的甲醇, 摇匀。取少量用 0.45 μ m 滤膜滤过, 进样 10 μ l, 记录色谱峰面积, 外标法计算含量。测定了 3 批样品, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果

样品批号	含量(n=3)	RSD%
951013-1	0.71%	2.1
951013-2	0.73%	1.8
951116	0.76%	1.9

三、讨论

(一)用甲醇做提取溶剂, 分别经水浴回流提取 30、60 和 90min 考察, 60min 可提取完全, 因此确定回流提取 1h。

(二)稳定性观察表明, 样品液在室温下(约 22 $^{\circ}$ C)置棕色量瓶中, 48h 内葛根素含量无明显改变。

(三)曾经测定 4 批葛根中葛根素含量, 不同批次间含量差别较大, 含量分布范围在 1.4%—5.8%。据此计算, 初步认为葛根芩连片中葛根素含量应不低于 0.7%。

参考文献

- [1] 阴健等. 中药现代研究与临床应用. 第 1 卷第 1 版. 北京: 学苑出版社, 1995: 626
- [2] 詹贵成等. 薄层层析—比色法测定葛根芩连汤中葛根素含量. 药物分析, 1987, 7(1): 58
- [3] 曹志红等. 葛根黄芩黄连汤煎剂和片剂中主要有效成分分析. 云南中医杂志, 1993; 14(5): 30

毛细管气相色谱法测定撒烈痛片含量

杨晓军 靳宝峰 杨松 毕森林 武贵兰* 李晓丹*
(沈阳军区药品检验所 沈阳 110026)

摘要 本文采用毛细管气相色谱法测定撒烈痛片的含量。色谱柱: 交联 SE-54 弹性石英毛细管柱 (0.25mmid \times 25m), 氢火焰离子化检测器(FID), 进样量在 0.3mg—1.3mg 内 4 种成分与峰面积比呈直线相关 (非那西丁: $y=2.9554x-0.1281, r=0.9995$; 咖啡因: $y=1.5584x-0.0257, r=0.9994$; 氨基比林: $y=1.1653x-0.0893, r=0.9992$; 苯巴比妥: $y=2.535x-0.1754, r=0.9998$)。平均回收率 \pm 标准差分别为 100.2% \pm 1.17%、99.8% \pm 1.94%、100.5% \pm 1.46%、98.4% \pm 1.82%。

关键词 非那西丁; 咖啡因; 氨基比林; 苯巴比妥; 毛细管气相色谱

Quantitative analysis of salidvn tablets by capillary gas chromatography

Yang Xiaojun, Jin Baogeng, Yang Song, Bi Shenlin, Wu Guilan, Li Xiaodan
(Institute for Drug control of shenyang Mitiary Region Shenyang 110026)

ABSTRACT Salidvn tablets have been separated and determinaed by capillary Gas chromatography. Salidvn was separated on a SE-54 column (0.25mmid \times 25m), using hydrogen flame ionzgatation detector (FID). There was a good linearity ranging from 0.3 to 1.3mg of salidvn

* 沈阳军区总医院药剂科