

醇提取含量偏低,故选用甲醇-甲酸(95:5)溶液作为提取溶剂,结果较满意。

3.2 分离度的考察:高效液相色谱图如图1,供试品中阿魏酸分离良好,而阴性液无干扰。

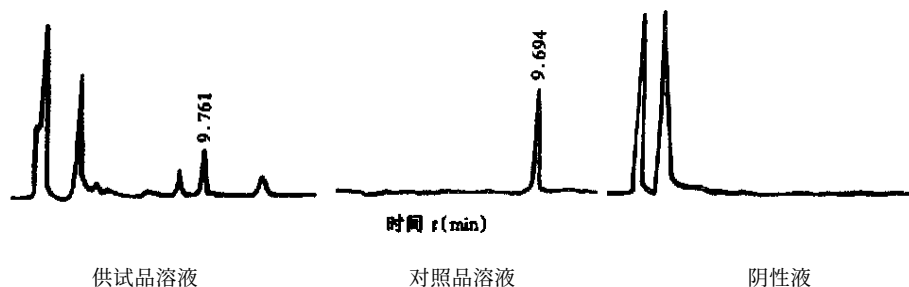


图1 高效液相色谱图

3.3 精密度的考察:结果其RSD为0.6%(n=6),表明仪器精密度良好。

3.4 稳定性的考察:结果8h内,色谱峰面积无明显改变,其RSD为1.7%,表明稳定性良好。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部.药品标准.中药成方制剂第8册.1993:194
- 2 陈汉平,刘素香,李桂梅.中草药,1988,19(10):15

(1999-10-08收稿)

HPLC法测定健骨生胶囊中葛根素和芍药苷含量

中国药品生物制品检定所(北京 100050)
天津达仁堂制药厂

郑笑为* 倪龙 马双成 林瑞超
张捷

摘要 目的:测定健骨生胶囊中葛根素、芍药苷的含量。方法:应用HPLC法。结果:胶囊中葛根素含量为0.02毫克/粒,芍药苷含量为0.16毫克/粒。结论:本法灵敏、快速、专属性及重现性较好。

关键词 健骨生胶囊 葛根素 芍药苷 HPLC

健骨生胶囊是由当归、葛根、白芍、土茯苓、西洋参等十几味中药组成的复方制剂,有很好的强筋壮骨的作用。其组分复杂,为了控制内在质量,采用HPLC法测定其中葛根素与芍药苷的含量,该方法前处理简单,回收率高,重现性好,可用于工厂常规分析检验用。

1 仪器、样品与试剂

仪器 SP8800高效液相色谱仪;日本岛津公司SGL-6A高效液相色谱仪;健骨生胶囊由北京匡达制药厂提供;葛根素、芍药苷对照品由中国药品生物制品检定所提供;试剂为分析纯,水为蒸馏水,柱层析用聚酰胺(80~120目)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:葛根素: C₁₈-ODS色谱柱(250 mm×4.6 mm, 6 μm);流动相:乙腈-水-冰醋酸(8:92:0.5);检测波长为250 nm;柱温35℃;流速1.0

mL/min;保留时间15 min左右。

芍药苷: C₁₈-ODS色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(23:77,磷酸调pH值3~4);检测波长为232 nm;流速1.0 mL/min;保留时间17 min左右。

在上述条件下,这两种成分可与杂质峰分离,空白样品也无干扰,见图1。

2.2 对照品溶液的制备:葛根素:精密称取葛根素对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.2 mg的溶液,再精密吸取1 mL置10 mL容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

芍药苷:精密称取80℃干燥至恒重的芍药苷对照品适量,加甲醇制成每毫升含0.15 mg的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:葛根素:取本品,除去囊壳,精密称取胶囊内容物约4 g置具塞锥形瓶中,加

* Address: Zheng Xiaowei, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing

郑笑为 大学学士,主管药师,主要从事中药质量分析及天然药物化学方面的研究。完成有对银杏中黄酮类有效成分的提取分离与鉴定,中药材珍珠、人工牛黄的X衍射 Fourier谱的研究等。

入甲醇 200 mL,轻轻摇匀,称重,然后超声处理 60 min,放冷,再称重,用甲醇补足损失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 100 mL,置水浴上蒸干,用少量甲醇溶解,置 10 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μ m 微孔滤膜,作为供试品

溶液。

2.4 标准曲线的制备:葛根素:精密称取葛根素对照品 1.86 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。再精密从中吸取 1 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。精密吸取上述

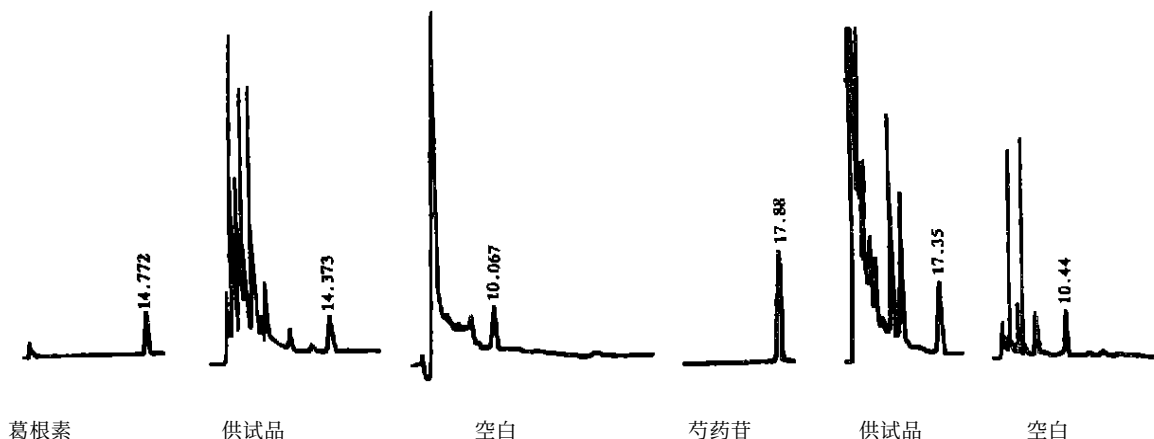


图 1 样品 HPLC 图

对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,以葛根素重量 (μ g)为横坐标,计算得一直线,线性回归方程: $Y=222\,978.49X-382\,60$, $r=0.999\,7$,结果表明在 0.037~ 0.186 μ g 范围内葛根素浓度与峰面积呈良好线性关系。

芍药苷:精密称取 80 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的芍药苷对照品 7.12 mg,置 50 mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,以芍药苷重量 (μ g)为横坐标,计算得一直线,线性回归方程: $Y=1\,574\,152X-16\,864.9$, $r=0.999\,9$,结果表明在 0.14~ 1.28 μ g 范围内芍药苷浓度与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 6 μ L,重复进样 5 次,葛根素峰面积的 RSD 为 1.62%,芍药苷峰面积的 RSD 为 0.55%,说明精密度良好。

2.6 重现性试验:取同一批号样品 5 份,分别按样品测试条件测定,葛根素的 RSD 为 1.22%,芍药苷的 RSD 为 1.44%,表明重现性良好。

2.7 样品测定:分别精密吸取葛根素对照品 6 μ L 和供试品 8 μ L,芍药苷对照品 5 μ L 及供试品 7 μ L,

注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以外标法计算含量,结果见表 1。

表 1 样品含量测定

批 号	葛根素含量 (毫克/粒)	RSD (%)	芍药苷含量 (毫克/粒)	RSD (%)
971115	0.022	1.67	0.216	0.37
971009	0.021	1.29	0.203	1.80
970916	0.024	1.51	0.186	1.44

2.8 回收率试验:采用加样回收法,按样品制备方法测试条件测定,结果葛根素平均回收率为 99.77%, $RSD=1.05\%$ ($n=5$);芍药苷平均回收率为 103.61%, $RSD=1.63\%$ ($n=5$)。

2.9 稳定性试验:精密吸取对照品溶液 6 μ L,隔 1 h 进样一次,测定 6 h 内峰面积变化,计算 RSD ,葛根素为 1.62%,芍药苷为 1.33%,证明 6 h 内稳定。

3 结论

实验结果表明,上述方法效果最佳。曾用大孔树脂柱去除杂质,但对被测样品有吸附,故采用直接超声提取方法处理样品。

3.2 在芍药苷样品提取过程中,为了使待测样品与杂质能够完全分离,将样品通过聚酰胺柱后,能够去除大量杂质,得到良好的分离效果。

3.3 流动相的配制加入少量酸得峰形较为理想

(1999-12-22 收稿)

热烈庆祝中华人民共和国建国 51 周年