

HPLC法测定葛根素葡萄糖注射液中葛根素的含量

李群力,蒋晓萌*

(浙江尖峰药业有限公司,浙江 金华 321000)

葛根素葡萄糖注射液为血管扩张药,临床用于冠心病、心绞痛、心肌梗死的预防和治疗。葛根素为其主要有效成分,本实验采用 HPLC法测定其中葛根素的含量,方便、准确,便于控制产品的质量^[1,2]。

1 仪器与试药

Waters 2690型高效液相色谱仪,966型二极管阵列检测器,Millennium 32色谱管理系统。葛根素对照品(批号:0752-9816,中国药品生物制品检定所),3'-甲氧基葛根素(批号:980601,含量 98.5%,中国医学科学院协和药厂)。葛根素葡萄糖注射液(自制)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: ODS C₁₈ (150 mm× 4.6 mm, 5 μm),流动相: 甲醇-1.5%冰醋酸-氯仿 (21: 78: 1),流速: 1.0 mL/min,柱温: 30℃,检测波长: 250 nm,灵敏度: 0.1 AUFS,进样体积: 20 μL;理论塔板数以葛根素计不低于 1000。

2.2 对照品溶液的制备: 取葛根素对照品适量,加水溶解制成每毫升含葛根素 0.2 mg 的溶液;另取 3'-甲氧基葛根素对照品适量,加水溶解制成每毫升含 3'-甲氧基葛根素 0.2 mg 的溶液。分别精密吸取葛根素对照品 10 mL, 3'-甲氧基葛根素对照品 1 mL,加水至 25 mL,得对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密吸取样品 1.5 mL,置 50 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线及线性范围: 分别精密吸取混合对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL于 10 mL容量瓶中,加水稀释至刻度,分别进样,测定。以峰面积对浓度绘制回归曲线,经回归分析,得回归方程: $Y = 1\,928\,056.9X - 59\,210.4$, $r = 0.999\,5$,线性范围 0.2~2.0 μg。

2.5 稳定性试验: 精密吸取葛根素葡萄糖注射液(批号 00329-1) 1.0 mL,置 10 mL量瓶中,加水稀释至刻度。每 1 h进样 20 μL,测定,连续观察 8 h后,每隔 24 h测定,结果日内稳定性 RSD 为 0.46%,日

间稳定性 RSD 为 0.52%。

2.6 精密度试验: 精密吸取上述对照品溶液 12 μL,进样 8次测定,结果 RSD 为 0.22%。精密吸取样品 (000329-2) 1.0 mL,置 10 mL量瓶中,平行试验 5份,分别加水至刻度,进样 20 μL,测定,结果 RSD 为 0.87%,因而方法精密度良好。

2.7 重现性试验: 精密吸取 3份样品 (000329-2)各 1.0 mL,加水稀释至 10 mL,进样 20 μL,依法于日内、日间分别测定,结果 RSD 为日内 0.76%,日间 0.96%。

2.8 干扰性试验: 取 5%葡萄糖溶液 1.0 mL,加水稀释至 50 mL,进样测定,结果在葛根素、3'-甲氧基葛根素相应的 t_R 处无干扰吸收峰。

2.9 回收率试验: 按样品处方比例分别精密吸取葛根素、3'-甲氧基葛根素及葡萄糖适量,加水溶解至 10 mL,按葛根素葡萄糖注射液制备方法制备,进样,测定,计算回收率。结果葛根素的平均回收率为 99.85%, RSD 为 0.86% ($n = 9$)。

2.10 样品含量测定: 精密吸取样品 1.0 mL,置 10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,进样 20 μL,测定,结果见表 1。

表 1 样品中葛根素含量 ($n = 3$)

批号	葛根素 (mg/mL)
000329-1	1.196 8
000329-2	1.192 7
000329-3	1.191 0

3 讨论

本方法经比较甲醇-水、甲醇-水-氯仿、甲醇-冰醋酸-氯仿等不同体系和比例流动相的色谱行为,结果甲醇-冰醋酸-氯仿 (21: 78: 1) 分离效果最佳。

本研究建立的葛根素葡萄糖注射液中葛根素含量的测定方法可为葛根素葡萄糖注射液成品质量标准的建立提供依据。

参考文献:

- [1] 陶忠华. 新药葛根素的研究 [J]. 中国新药, 1993, 2(6): 1-3.
- [2] 中国药典. 2000年版. 二部.