

出量。结果见表 2, 方差分析见表 3, 4。

表 2 L₉(3⁴) 试验设计及结果

Table 2 Design and result of L₉(3⁴) orthogonal test

列号	A	B	C	D(空 白)	固形物 得率/%	延胡索乙素 浸出量/mg
1	1	1	1	1	10.56	16.93
2	1	2	2	2	15.32	17.23
3	1	3	3	3	15.41	18.55
4	2	1	2	3	10.01	24.98
5	2	2	3	1	12.63	25.90
6	2	3	1	2	13.53	26.68
7	3	1	3	2	9.11	23.60
8	3	2	1	3	11.55	23.30
9	3	3	2	1	11.57	23.95
固形物得率	41.29	29.68	35.64	34.76	36.17	39.50
	32.23	40.51	37.15	36.97		
R	9.06	10.83	1.51	3.20		
SS _j	9.12	13.03	0.25	1.14		
延胡索乙素 浸出量	52.71	65.51	66.91	66.78	77.56	66.43
	70.85	69.18	68.05	66.83		
R	24.85	3.67	1.89	0.73		
SS _j	68.61	1.50	0.40	0.06		

表 3 固形物得率方差分析

Table 3 Variance analysis of solid extracting

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	13.76	2	6.88	12.29	P < 0.05
B	23.86	2	11.93	21.30	P < 0.01
误差(C+D)	2.23	4	0.56		

$F_{0.05}(2, 4) = 6.94$ $F_{0.01}(2, 4) = 18.00$

表 4 延胡索乙素浸出量方差分析

Table 4 Variance analysis of tetrahydropalmatine extract

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	110.18	2	55.09	918.17	P < 0.01
B	2.43	2	1.22	20.33	
C	0.61	2	0.31	5.17	P < 0.05
误差(D)	0.11	2	0.06		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

以固形物得率为评价指标, 乙醇体积分数对其有显著性影响, 加醇量对其有极显著性的影响, 最佳提取工艺为 A₁B₃C₁; 以延胡索乙素总量为评价指标, 乙醇体积分数对其具有极显著的影响, 加醇量对其有显著性的影响, 最佳提取工艺为 A₂B₃C₁。提取固体物的多少与有效成分的浸出并不一定完全呈正比关系, 相反, 乙醇体积分数愈小, 水溶性杂质成分溶出会更多。70% 乙醇提取时延胡索乙素量明显大于 60% 乙醇提取的延胡索乙素量, 而且统计学上差异具有显著性(P < 0.01), 这也说明 70% 乙醇更利于延胡索中醇溶性成分的浸出, 因此 A₂B₃C₁ 醇提工艺条件应该更具有合理性, 故选用 A₂B₃C₁ 方案对延胡索进行提取。

2.4 验证试验: 取延胡索粗粉适量, 按照最佳工艺条件 A₂B₃C₁ 进行试验, 结果固形物得率为 12.65%, 延胡索乙素浸出量达 26.68 mg, 与正交试验中结果一致。

3 讨论

由方差分析结果可知, 乙醇体积分数、加醇量对固形物得率和延胡索乙素得率均有显著影响, 而提取时间仅有一定影响。

在最优工艺条件下延胡索乙素的转移率达 88.7%, 提取已比较完全, 且验证试验结果表明该工艺稳定可行, 适合大于生产。

References:

[1] Xu T, Jin X L, Cao H M. Advance in research of pharmacological activities of dl-tetrahydropalmatine [J]. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药理学杂志), 2001, 10(1): 58-60.
 [2] Chen P, Xing Z R. Comparison of extracting and analysis of total alkaloids from *Rhizoma Corydalis* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 1993, 10(6): 15-16.
 [3] Gong Q, Zhou D. Assay of tetrahydropalmatine in Yanhusuo by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2000, 17(4): 315-317.

HPLC 法测定参葛颗粒中葛根素的含量

戎欣玉¹, 邵文亮², 马 燕², 胡献菊^{2*}

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北 石家庄 050018; 2. 河北省药物研究所, 河北 石家庄 050061)

参葛颗粒是由人参、葛根、麦冬、茯苓、黄芪、生地等 10 味中药加工而成的中药制剂, 具有生津止

渴、清热除烦、养阴滋肾、益气和中之功效。为了有效控制该制剂的质量, 本实验对其君药葛根中的有效

* 收稿日期: 2004-01-28

作者简介: 戎欣玉(1962—), 女, 石家庄市人, 副教授, 主要从事教学及药物制剂的研究开发。

Tel: (0311) 8632185 E-mail: xyrong@hebut.edu.cn

成分葛根素进行了含量测定研究。本方法简便、快速、结果准确,为该制剂的质量控制提供了实验依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:江申 LC—10 系列,江申通用汉字色谱工作站,美国 Rheodune 7725i 进样阀(20 μ L)。

葛根素对照品(批号:0752-9907,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);甲醇(分析纯);水(亚沸水);参葛颗粒(自制)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:精密称取葛根素对照品适量,加 25% 甲醇制成 50 μ g/mL 溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备:精密称取研细的本品粉末 0.45 g,置 100 mL 具塞烧瓶中,精密加入 25% 甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用 25% 甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液适量。用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,取滤液,即得。

2.3 阴性样品溶液的制备:按样品处方称取除葛根外的中药材适量,按供试品提取制备方法制备,即得。

2.4 色谱条件^[1,2]:Hypersil C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水(25 : 75);检测波长:250 nm;柱温:室温;体积流量:1.4 mL/min。在上述色谱条件下,对照品、阴性样品及供试品色谱见图 1。可见,阴性样品在葛根素峰位置处无假性峰,表明参葛颗粒中其他成分对葛根素的测定无干扰。此条件下葛根素与其他组份均能达到基线分离。

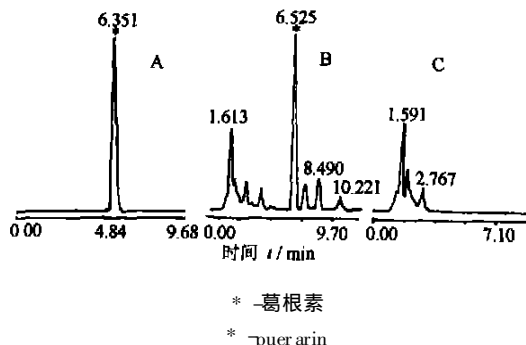


图 1 葛根素对照品(A)、参葛颗粒(B)及阴性样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of puerarin (A), Shenge Granule (B), and blank (C)

2.5 线性关系的考察:精密称取葛根素对照品制成质量浓度为 100 μ g/mL 的溶液。各取适量分别稀释成 10、20、30、40、50 μ g/mL 的溶液,按上述色谱条件各取 20 μ L 进样,测定峰面积。以峰面积 A 为横坐标,进样量 X 为纵坐标,得回归方程: $X = 1.976 \times 10^{-7} A - 1.272 \times 10^{-2}$, $r = 1.0000$ 。结果表明葛根

素在 0.2~2.0 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度的试验:精密吸取葛根素对照品溶液 20 μ L,在上述色谱条件下重复进样 6 次,分别测定峰面积值,其 RSD=0.16%。

2.7 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 20 μ L,按上述色谱条件,在 0、1、2、3 h 分别进样,测定峰面积值,结果 3 h 内数据稳定,葛根素峰面积 RSD=0.21%。

2.8 重现性试验:取同一批号样品,平行制备 5 份供试品溶液,分别进样,测定峰面积值,结果葛根素峰面积 RSD=0.28%。

2.9 回收率试验:采取加样回收法。精密称取批号为 000814 的样品 5 份适量(含葛根素约 1.5 mg),分别加入葛根素对照品溶液适量(含葛根素约 1.5 mg),混匀,制备供试品溶液,分别进样,测定峰面积值,计算,结果平均回收率为 99.36%,RSD 为 2.22% ($n=5$)。

2.10 样品的测定:取 10 个批号的样品,制成供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算含量,结果见表 1。

表 1 参葛颗粒中葛根素的含量 ($n=2$)

Table 1 Puerarin in Shenge Granule ($n=2$)

批号	葛根素/(mg \cdot g ⁻¹)	批号	葛根素/(mg \cdot g ⁻¹)
000731	6.84	000912	5.72
000814	6.39	000916	5.21
000828	6.40	000920	5.61
000904	5.83	000922	5.84
000908	5.57	000925	5.81

3 讨论

3.1 流动相的选择:试验中曾以甲醇-水(30 : 70)、甲醇-水(21 : 79)不同流动相试验,但制剂中葛根素峰分离状态不佳或保留时间过长。本法采用甲醇-水(25 : 75)为流动相,处方中各成分可有效地分离,且其他组份对葛根素含量测定无干扰。

3.2 供试品提取方法的选择:用 50% 乙醇、30% 乙醇、25% 甲醇为溶剂提取样品,结果显示以 25% 甲醇提取,峰形最优,且提取完全。经比较超声提取、热浸回流和不同的回流时间试验,结果以热浸回流 30 min 最佳。

3.3 方法学考察结果显示,本试验所建立的方法准确可靠,可作为该制剂中葛根素的含量测定方法。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol . 2000.
- [2] Chen L M, Lu R F, Xiong F L. Determination of puerarin in Lanqiangtang Capsules by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1999, 21(10): 505-506.