

## HPLC 法测定表实感冒颗粒中葛根素

王立春<sup>1</sup>, 张晓然<sup>2</sup>, 郭长强<sup>3</sup>, 徐海<sup>1</sup>

(1. 济南市传染病医院 药剂科, 山东 济南 250021; 2. 济南市中心医院 中药房, 山东 济南 250013;  
3. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014)

表实感冒颗粒来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂(WS3—B—3067—98), 由紫苏叶、葛根、白芷等 11 味中药组成, 具发汗解表、祛风散寒之功, 用于感冒病风寒表实证, 证见恶寒重、发热轻、无汗、头项强痛、鼻流清涕、咳嗽、痰白稀, 临床疗效满意。但在质量标准中, 没有建立定量方法。为了更好地控制该产品质量, 本实验对处方中葛根素采用 HPLC 法进行测定, 以对该制剂进行质量控制。

### 1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱系统, Water600E 泵, 7725i 定量进样阀, 996 二极管阵列检测器, M32 色谱工作站(江苏汉邦科技有限公司); 葛根素对照品购自中国药品生物制品检定所; 表实感冒颗粒由四川奇力制药厂提供, 甲醇为色谱纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Lichrospher-C<sub>18</sub> 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-3% 醋酸(22 : 78); 检测波长: 250 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备: 精密称取表实感冒颗粒 2 g, 置具塞三角瓶中, 加 30% 乙醇 50 mL, 称定质量, 超声提取 20 min, 以 30% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.2 阴性对照溶液的制备: 取不含葛根的阴性颗粒, 照上述供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备: 精称葛根素对照品 2.17 mg, 置 5 mL 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(含葛根素 0.434 mg/mL)。

2.3 空白试验: 分别取葛根素对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL 注入液相色谱仪, 结果

供试品与对照品溶液均在相同保留时间内出现吸收峰, 葛根素峰保留时间约为 10.5 min, 阴性对照溶液在葛根素峰位置处无吸收峰(图 1)。

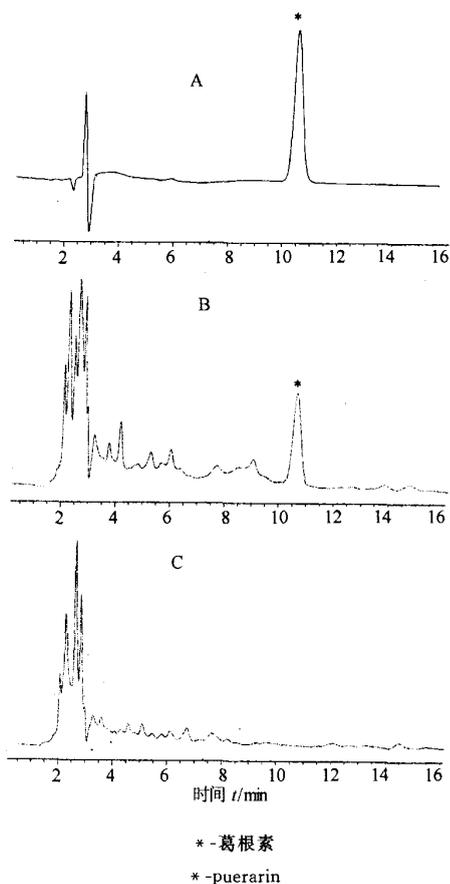


图 1 葛根素对照品(A)、表实感冒颗粒(B)和缺葛根的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of puerarin reference substance (A), Biaoshi Ganmao Granula (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系考察: 精密吸取葛根素对照品溶液各 1 mL 分别制成 43.400、17.360、8.680、3.472、1.736 μg/mL 对照品溶液, 摇匀, 分别进样 10 μL 进  
(下转第 929 页)

收稿日期: 2004-08-20

作者简介: 王立春(1954—), 女, 副主任中药师, 主要从事中药制剂、中药饮片、中药材的质量标准研究与管理工作。  
Tel: (0531) 7935971-8150

2.7 稳定性试验:取同一批供试品溶液分别于 0、1、2、4、5、6、7、8 h,进样,依法测定次黄嘌呤的峰面积,其 RSD 为 1.55% (n=5)。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。已知质量分数的沪地龙样品中加入一定量的次黄嘌呤对照品,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,计算回收率,结果次黄嘌呤平均回收率为 99.67%,RSD 为 1.71% (n=5)。

2.9 样品测定:分别吸取次黄嘌呤对照品溶液及沪地龙供试品溶液各 10 μL 进样,测定,按外标一点法计算,结果见表 1。高效液相色谱图见图 1。

3 讨论

表 1 样品中次黄嘌呤的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of 6-hydroxypurine in samples (n=2)

产地与批号	样品品种	次黄嘌呤/%
金山 2bd-20	威廉环毛蚓	0.047 3
奉贤 2bd-21	威廉环毛蚓	0.026 9
奉贤 2bd-22	威廉环毛蚓	0.052 1
松江 2bd-20	通俗环毛蚓	0.031 7
松江 2bd-21	通俗环毛蚓	0.039 8
松江 2bd-22	通俗环毛蚓	0.035 8
松江 2bd-23	通俗环毛蚓	0.044 3
金山 2bd-21	通俗环毛蚓	0.062 7
奉贤 2bd-23	栉盲环毛蚓	0.039 6
奉贤庄行 2bd-24	栉盲环毛蚓	0.071 2

(上接第 865 页)

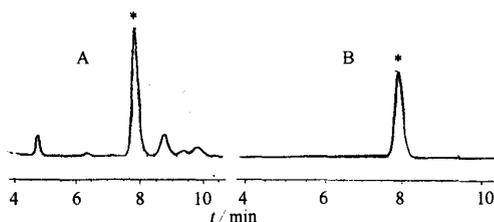
行测定。以峰面积积分为纵坐标,质量浓度为横坐标,经处理得回归方程:Y=41 571 C+9 287.2, r=1.000,表明葛根素在 1.736~43.400 μg 时,质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取 8.68 μg/mL 葛根素对照品溶液 10 μL,照上述色谱条件进样测定,重复进样 5 次,计算得葛根素峰面积积分值 RSD = 0.52%。

2.6 重现性试验:取同一批号(批号:020410)的样品制备 5 份供试品溶液,测定,结果葛根素质量分数的 RSD=1.37% (n=5)。

2.7 稳定性试验:取同一份供试品溶液,每隔 2 h 进样 1 次,连续考察 10 h,测定葛根素峰面积积分值,结果其 RSD=1.15% (n=6)。

2.8 回收率试验:称取葛根素 9.11 mg,置 25 mL 量瓶中,加 30%乙醇稀释至刻度,摇匀,再吸取 2 mL 置 10 mL 量瓶中,加 3%乙醇稀释至刻度,摇匀



\* -次黄嘌呤  
\* -6-hydroxypurine

图 1 样品 (A) 和次黄嘌呤 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample (A) and 6-hydroxypurine (B)

3.1 地龙中的次黄嘌呤在水中溶解性最好,稀乙醇中次之,随着乙醇体积分数的升高溶解度下降。

3.2 在分离条件的筛选中曾经使用过磷酸氢二铵缓冲液为流动相,但分离较差,在反复比较后采用了水与甲醇的流动相加四氢呋喃改善峰形。

3.3 沪地龙样品中含次黄嘌呤的量差别较大,在不同季节里收获的沪地龙中也有较大差别,该方法可以作为衡量地龙品质好坏的依据之一。

References:

[1] Zheng H Z, Dong Z, She J. *Modern Study and Application of Chinese Materia Medica* (中药现代化研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1998.  
[2] Hu X, Huang W H. Comparison and determination of 6-hydroxypurine in different *Pheretima* between Shanghai and Guangdong [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16 (1): 42-43.

即得。取同一批(批号:020410)表实感冒颗粒 5 份,各 1 g,分别置具塞三角瓶中,各加入葛根素对照品溶液 1 mL,按供试品溶液制备方法制备,测定,计算回收率,结果葛根素回收率为 98.91%,RSD 为 1.15%。

2.9 样品测定:照上述色谱条件及方法测定 3 批表实感冒颗粒中的葛根素,结果见表 1。

表 1 表实感冒颗粒中葛根素的测定结果 (n=3)

Table 1 Puerarin in Biaoshi Ganmao Granule (n=3)

批号	葛根素/(μg · g <sup>-1</sup> )	RSD/%
020515	61.89	1.21
020517	61.89	1.51
020520	77.27	1.13
020410	73.14	1.27

3 讨论

经测定,葛根素在 251.0 nm 处有最大吸收,故选为检测波长,保证了检测的灵敏度。

通过方法学考察、样品定量测定分析,该方法简便、准确,为表实感冒颗粒的质量控制提供了保证。