

高效液相色谱法测定表虚感冒颗粒中葛根素的含量

杨海丽, 李志浩

(湖北医药学院附属东风医院药学部, 湖北十堰 442008)

摘要: 目的 建立测定表虚感冒颗粒中葛根素含量的高效液相色谱方法。方法 采用 Phenomenex LUNA-C₁₈ 柱(4.6mm×250mm, 5μm), 以甲醇:水(21:79)为流动相, 流速 1.0mL·min⁻¹, 柱温 30℃, 检测波长 250nm。结果 葛根素在 0.023~0.460mg/mL 浓度范围内有良好线性关系($r=0.9999$), 平均加样回收率为 99.1%, RSD1.52%。结论 本方法简便, 快速, 准确, 重复性好, 可用于表虚感冒颗粒中葛根素的含量测定。

关键词: 葛根素; 表虚感冒颗粒; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2013)06-0039-03

表虚感冒颗粒为原卫生部部颁药品标准收载, 由桂枝, 葛根, 白芍, 苦杏仁(炒), 生姜, 大枣 6 味中草药组成。具有散风解肌, 和营退热之功效。临床主要用于感冒病外感风寒表虚证, 症见发热恶风, 有汗, 头痛项强, 咳嗽痰白, 鼻鸣干呕, 苔薄白, 脉缓^[1]。葛根为方中君药, 具有解表退热, 生津, 透疹, 升阳止泻之功效。用于外感发热头痛、高血压颈项强痛、口渴、消渴、麻疹不透、热痢、泄泻等症^[2]。葛根含有丰富的葛根素、葡萄糖苷、大豆异黄酮、大豆苷元、氨基酸、微量元素、三萜类物质碱等对人体有益的重要生物活性物质。葛根素是葛根中单一成份黄酮苷, 具有改善微循环、活血化瘀、扩张脑血管和冠状动脉、降低心肌耗氧量等作用^[3]。表虚感冒颗粒标准无质量控制方法, 本研究对不同批次表虚感冒颗粒中葛根素的含量进行分析, 结果表明: 本法灵敏快速、重复性好, 结果准确。现报道如下:

1 仪器与试药

Dionex-U3000 液相色谱仪 (Dionex 公司, Dionex Chemeleon 色谱工作站); 色谱柱: Phenomenex LUNA-C₁₈ 柱(4.6mm×250mm, 5μm); AEU-210 型电子天平 (d=0.1mg, 日本岛津); KQ-100DB 超声波清洗机 (昆山分析仪器有限公司); 葛根素对照品 (供含量测定用, 中国食品药品检定研究院, 批号 110752-200511); 甲醇 (天津大茂, 色谱纯); 水为

双蒸水; 其他试剂均为分析纯; 表虚感冒颗粒 (自制, 规格: 10.0g/袋)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取经 P₂O₅ 减压干燥器中干燥至恒重的葛根素对照品适量, 精密称定, 加 30% 乙醇制成每 1mL 含 0.46mg 的溶液, 即得。

2.2 供试品的制备

本品, 研细, 取约 2.0g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 30% 乙醇 50mL, 称定重量, 加热回流 30min, 放冷, 用 30% 乙醇补足的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。按上述方法制得不含葛根的阴性对照溶液。

2.3 色谱条件

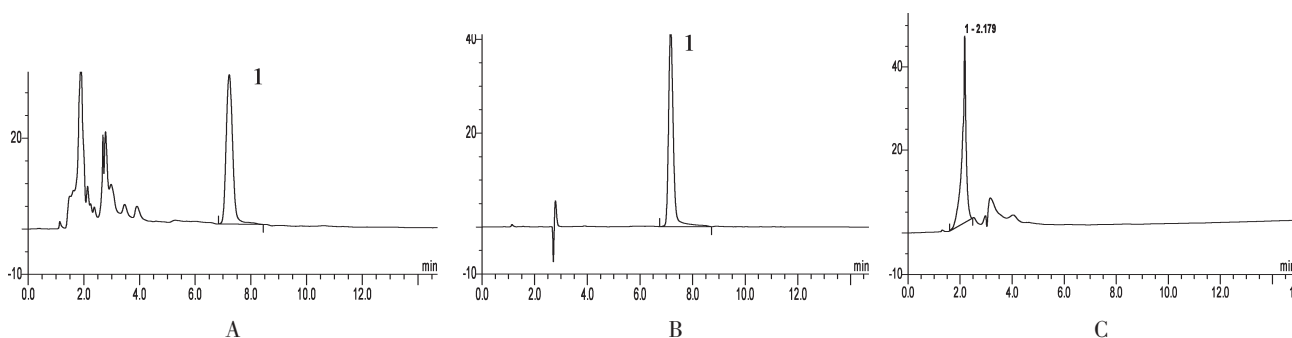
采用 Phenomenex LUNA-C₁₈ (4.6mm×250mm, 5μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇-水 (21:79); 流速: 1.0mL·min⁻¹; 柱温: 30℃; 进样量: 10μL; 检测波长 250nm^[4-6], 在此色谱条件下, 葛根素色谱峰理论板数不小于 3 000, 分离度大于 1.5。色谱图见图 1。

2.4 标准曲线与线性范围

精密吸取葛根素对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 8.0, 10.0mL 分别置 10mL 量瓶中, 以 30% 乙醇定容至刻度, 摇匀, 得到浓度分别为 0.023, 0.046, 0.092, 0.230, 0.368, 0.460mg/mL 的葛根素对照品溶液。分别精密吸取 10μL 注入液相色谱仪, 按上述色

收稿日期: 2013-09-07 修回日期: 2013-11-12

作者简介: 杨海丽 (1971~), 女, 湖北十堰人, 主管药师, 主要从事医院药学工作。



A. 供试品; B. 对照品; C. 空白对照; 1. 葛根素

图 1 测定表虚感冒颗粒中葛根素的 HPLC 图

谱条件测定峰面积,以浓度(X)对峰面积(Y)进行线性回归,得到回归方程为: $y=103.477x+10.0264$, $r=0.9999$;结果表明葛根素在 0.023~0.460mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取葛根素对照品溶液,按照上述色谱条件,进样分析,平行重复 6 次,结果葛根素色谱峰保留时间稳定,计算 6 次峰面积 RSD 为 1.17%。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液,室温下分别在 0,2,6,12,24h 进样测定,记录葛根素色谱峰面积,计算其 RSD 为

1.34%,表明处理后的供试品溶液在 24h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号 20120510)6 份,精密称定,按上述方法制备供试品溶液,依法测定,结果葛根素的平均含量为 0.57mg/g, RSD 为 1.26%。

2.8 加样回收率试验

称取重复性实验测定含量的表虚感冒颗粒样品,平行 9 份,每份 1.0g,精密加入对照品储备溶液(浓度 0.46mg/mL)1.0,1.2,1.5mL(3 种不同水平,各 3 份),按上述方法同法制备供试品溶液,进样 10 μ L。按外标两点法计算葛根素含量,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

编号	水平	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率	RSD
1	低	0.9868	0.5625	0.460	1.0153	98.4	99.1%	1.52%
2		1.0552	0.6015	0.460	1.0518	97.9		
3		1.0046	0.5726	0.460	1.0440	102.5		
4	中	0.9879	0.5631	0.552	1.1108	99.2		
5		1.0447	0.5955	0.552	1.1396	98.6		
6		0.9975	0.5686	0.552	1.1082	97.8		
7	高	1.0079	0.5745	0.690	1.2626	99.7		
8		0.9907	0.5647	0.690	1.2557	100.1		
9		0.9818	0.5596	0.690	1.2357	98.0		

2.9 样品测定

按上述色谱条件对 5 批样品进行含量测定,结果见表 2。

3 讨论

本实验首次建立了高效液相色谱法测定表虚感冒颗粒中葛根素的定量方法。建立色谱条件实验中,曾比较不同比例甲醇-水、乙腈-水等流动相系

表 2 样品测定结果($n=3$)

批号	葛根素(mg/g)
20120510	0.57
20120517	0.49
20120521	0.53
20120525	0.60
20120530	0.42

统,最后根据其分离和色谱峰情况确定甲醇-水(21:79)体系为流动相可较好分离葛根素,且重现性良好。研究中对葛根素对照品进行了紫外扫描,结果葛根素在250nm波长处有最大吸收。因此本实验选择250nm为检测波长。按照中国药典中葛根项下葛根素对含量测定条件^[7]选择30%乙醇超声提取样品,作为供试品提取方法。根据本品测定的结果,高效液相色谱法可以较好分离出葛根素的主成分峰和杂质峰,方法具有灵敏、准确、重复性好等优点,有利于药品质量的控制。

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂:第十六册[S]. WS3-B-3068-98, 1998:91.

- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海:上海科技出版社, 1994:2307.
- [3] 王胜鹏,陈美婉,王一涛. 葛根化学成分和药理活性研究进展[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2): 193-196.
- [4] 黄樱华,黄月纯,王祝斌,等. 葛根骨康宁颗粒中葛根素的含量测定研究[J]. 中国药师, 2012, 15(2): 186-187.
- [5] 李翔,刘皈阳,马建丽,等. HPLC测定柴银口服液液中葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 131-133.
- [6] 毛红兵,张爱华,刘梦媛,等. 葛连解糖颗粒的质量标准研究[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(4): 486-491.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社, 2010:312.

(编辑:岳胜难)

Determination of Puerarin in Biaoxu Ganmao Granule by HPLC

YANG Hai-li, LI Zhi-hao

(Department of Pharmacy, Affiliated Dongfeng Hospital, Hubei Medical University, Shiyan Hubei 442008, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish a HPLC method for the determination of puerarin in Biaoxu Ganmao Granule. **Methods** The HPLC system consisted of the Phenomenex LUNA-C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm) column, the mobile phase consisted of MeOH(21)-H₂O(79), the flow rate was 1.0mL·min⁻¹, the column temperature was 30℃, The UV detector was set at 250nm. **Results** The linear response range was 0.023~0.460mg/ml (r=0.9999). The average recovery of puerarin was 99.1%, and RSD1.52%. **Conclusion** The method is simple, rapid, accurate and repeatable. It can be applied in determination of Puerarin in Biaoxu Ganmao Granule.

KEY WORDS: puerarin; biaoxu ganmao granule; HPLC

(上接第38页)恣于酒食之人,经水不调,不能成胎,谓之躯脂满溢,闭塞子宫。宜行湿燥痰,用星、夏、苍术、台芎、防风、羌活、滑石,或导痰汤之类。若是怯瘦性急之人,经水不调,不能成胎,谓之子宫干涩无血,不能摄受精气。宜凉血降火,或四物加香附、黄芩、柴胡,养血养阴等药可宜。”

综上所述,朱丹溪无论分析病因及诊断、治疗都与人的体质密切结合,做到“因人制宜,”这是中医临床的一大特色,应当引起我们的重视,并进一步深入研究。

参考文献

- [1] 王琦. 中医体质学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:6.
- [2] 田思胜,高巧林,刘建青,等. 朱丹溪医学全书[M]. 北京:中国中医药出版社, 2012.
- [3] 孙曼之. 朱丹溪医案评析[M]. 北京:中国中医药出版社, 2011:30.
- [4] 俞震. 古今医案按[M]. 北京:中国中医药出版社, 1999.

(编辑:徐建平)

To Discuss the Spirit of Treating by Differentiation of Individual from ZHU Dan-Xi's Medical Records

JIAO Zhao-zhu, ZHENG Yan-fei, WANG Ji, LI Ying-shuai, LI Ling-ru, WANG Qi

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

ABSTRACT: This paper selects the typical cases which are about constitution identification from Zhu Dan Xi's medical records. In order to understand the ancients' ideas about physical identification, These cases are analyzed and summarized according to the classification of Constitution of TCM, Summarizing their experience will improve the level of clinical efficacy and play a positive role in diagnosis and treatment.

KEY WORDS: ZHU Dan-Xi; constitution of TCM; treating by differentiation of individual