

# 高效液相色谱法测定葛根总黄酮及制剂中葛根素的含量

郭建平 孙其荣\* 周全\*  
(解放军第272医院 天津 300020)

**摘要** 以反相高效液相色谱法(RP-RPLC)测定葛根总黄酮提取物及制剂中葛根素的含量。检测波长250nm,流动相为甲醇-水(25:75),进样20 $\mu$ l,采用外标法。当葛根素浓度在0.5-12 $\mu$ g/ml时,浓度与峰面积呈良好线性关系, $r=0.9991$ 。回收率及RSD分别为100.9%,1.28%。

**关键词** 反相高效液相色谱法;葛根;葛根素;愈风宁心片;葛根总黄酮;葛根黄酮控释胶囊

## RP-HPLC method for the determination of puerarin in isoflowonesd from Radix puerariae and its preparations

Guo Jianping, Shun Qirong, Zhou Quan  
(No.272 PLA's Hospital Tianjin 300020)

**ABSTRACT** A RP-HPLC method for the determination of Puerarin in isoflowonesd from Radix Puerariae and its preparations and a C18 column and a mobile phase of methanol-water (25:75) were employed. Puerarin was determined at 250nm. The recovery rate of the Puerarin was 100.9%. The rigression equation was  $X = 466.83 + 8501.25C$  ( $r = 0.9991$ ), The method is simple, sensitive and accurate.

**KEY WORDS** RP-HPLC, puerarin

葛根(wild. Pueraria Lobata)含有多种异黄酮成分,具有降低心肌耗氧量,增加冠脉、脑血管流量,增强机体免疫力,降低血糖等多种药理作用。本文用反相高效液相色谱法,用外标法测定了葛根总黄酮及制剂中葛根素的含量。

### 实验部分

#### 一、材料和仪器

野葛,上海虹桥饮片厂;葛根素标准品;北京生化制品研究所;愈风宁心片,天津中药厂;葛根黄酮控释胶囊,自制;所用试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪,1c-6A,配备有SPD-2AS紫外检测器和C-R2AX数据处理

机;SIL-1A进样器(日本岛津公司),色谱柱BDS-HYpersil I<sup>R</sup>C<sub>18</sub>(250 $\times$ 4.6mm)。

#### 二、色谱测量条件

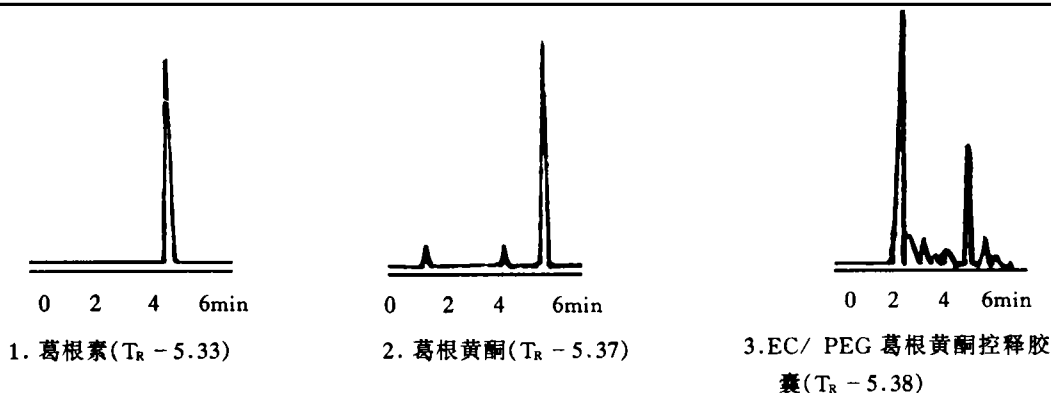
##### (一)葛根总黄酮的定性检验

将提取的葛根总黄酮用薄层色谱法定性检验。将待检溶液样品点样于硅胶、高效薄层板上,以氯仿:甲醇:水(7.5:2.5:0.25)为展开剂展开。同时点葛根素标准品溶液于同一薄层板上,在波长254nm下观察斑点。显相同斑点。

##### (二)色谱条件

色谱柱:BDS-HYpersil I<sup>R</sup>C<sub>18</sub>柱(250 $\times$ 4.6mm,5 $\mu$ m),流动相:水:甲醇(75:25),流速:1ml/min,柱温:45 $^{\circ}$ C,检测波长:254nm,灵敏度:0.01(aufs),进样20 $\mu$ l。葛根黄酮及葛根素标准色谱图见附图。

\* 第二军医大学药学院



附图 葛根素、葛根黄酮、EC/PEG 葛根黄酮控释胶囊甲醇溶液色谱图

表 1 回收率试验测定结果

组 分	加入量 $\mu\text{g}$ (n=6)	测得量
葛根黄酮	0.8	0.8075 $\pm$ 0.051
EC/PEG 葛根黄酮控释胶囊	1.0	1.0041 $\pm$ 0.005
PEG 葛根黄酮滴丸	1.2	1.2161 $\pm$ 0.005

四、样品的测定

(一)对照品溶液的制备:

精密称取葛根素标准  $10\mu\text{g}$  置 10ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,精密吸取上述溶液 1ml 置 10ml 容量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀。取  $0.1\text{mg/ml}$  的贮备液  $0.4\text{ml}$ , 置 10ml 容量瓶中,加水:甲醇(75:25)混合液稀释至刻度,摇匀。

(二)供试品溶液的制备

精密称取葛根黄酮制剂(约相当于葛根黄酮  $10\text{mg}$ ), 置 10ml 容量瓶中,以下按(一)项下操作。

取供试品溶液和对照品溶液各  $20\mu\text{l}$ , 注入液相色谱仪测定,计算结果。结果见表 2。

表 2 供试品测定结果(相当标示量%)

药 品	批 号	含 量(X)
片剂	940910	3.7
葛根黄酮	940811	28.39
EC/PEG 葛根黄酮控释胶囊	941118	7.78
PEG 葛根黄酮滴丸	940612	2.2

(下转第 299 页)

三、标准曲线制备

(一)标准品测定

分别吸取葛根素标准液 ( $0.1\text{mg/ml}$ )  $0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2\text{ml}$ , 置 10ml 容量瓶中,水:甲醇(75:25)混合液稀释至刻度。分别进样  $20\mu\text{l}$ , 峰面积与浓度进行线性回归,得回归方程:

$$x = -466.83 + 8501.25c, r = 0.9991.$$

(二)精密度

分别取对照品贮备液和样品溶液(葛根黄酮适量),按样品测定项下方法操作。对照品和样品中的葛根素的 RSD 分别是 1.28% (n=6)和 1.35% (n=6)。

(三)回收率试验

对照溶液的制备。精密称取葛根素对照品适量,加甲醇溶解至刻度,并稀释制成每 ml 含  $0.1\text{mg}$  的溶液,再稀释成  $1\mu\text{g/ml}, 2\mu\text{g/ml}, 4\mu\text{g/ml}, 6\mu\text{g/ml}, 8\mu\text{g/ml}, 10\mu\text{g/ml}$ , 的溶液备用。

精密称取对照品葛根素适量,分别加入处方量的空白 EC/PEG 和 PEG,加甲醇溶液稀释至刻度,分别精密吸取  $0.1\text{mg/ml}$  的溶液,配成  $4\mu\text{g/ml}, 8\mu\text{g/ml}, 10\mu\text{g/ml}$  的溶液,进样  $20\mu\text{l}$ ,回收率测定结果见表 1。

比-浓度曲线,得到通过原点的一条直线,其回归方程为非那西丁:

$$y = 2.9554x - 0.1281, r = 0.9995;$$

咖啡因:

$$y = 1.5584x - 0.0257, r = 0.9994;$$

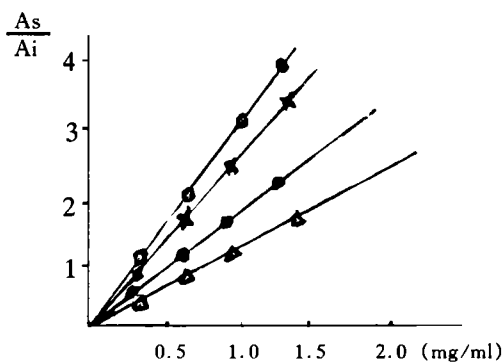
氨基比林:

$$y = 1.1653x - 0.0893, r = 0.9992;$$

苯巴比妥:

$$y = 2.535x - 0.1754, r = 0.9998.$$

标准曲线见图 2。



○非那西丁 ×苯巴比妥 ●咖啡因 △氨基比林

图 2 标准曲线

#### 四、回收率测定

按处方要求精密称取非那西丁 0.30g、咖啡因 0.03g、氨基比林 0.15g、苯巴比妥 0.03g 和辅料适量,置乳钵中,混匀研细按样品方法,进行提取分离、测定。非那西丁、咖啡因、氨基比林、苯巴比妥的平均回收率 ± 标准差分别为 100.2% ± 1.17%、99.8% ±

1.94%、100.5% ± 1.46% 和 98.4% ± 1.82%。

#### 五、样品测定

取市售厂家生产的四批样品各 10 片,精密称定,置乳钵中研细。精称出约 2.5 片重置 50ml 量瓶中,加甲醇浸泡 4h,用超声波发生器超声提取 30min,放置室温,以甲醇稀释至刻度,用干燥滤纸迅速滤过,取中间滤液 200μl,置 1ml 量瓶中,加入内标(巴比妥) 50.0μl,甲醇稀释至刻度。进样 1.0μl,测定结果见附表。

附表 样品测定结果

批号	样品标示量的(%) <sup>*</sup>			
	非那西丁	氨基比林	咖啡因	苯巴比妥
860501	100.3	97.6	100.1	98.1
860902	103.2	95.4	96.5	100.2
861112	98.4	102.2	94.8	99.3
860708	95.8	103.1	99.5	94.6

※3次测定结果平均值

#### 六、讨论

1. 本文测得结果经计算比较,采用峰面积比定量较采用峰高比为好,原因是由于进样量稍有误差,即可表现出峰高的较大差异。

2. 毛细管柱有较好的分辨率,对各组分均能达到很好的基线分离,本法也适用含有相同成分的解热镇痛药的定性定量。

#### 参考文献

- [1]广东省药品标准.1978年版,第1册.广东省卫生局编,1978:380
- [2]靳宝峰,毕森林.毛细管气相色谱法测定速效感冒胶囊.沈阳部队医药,1992;5:376

(上接第 301 页)

#### 讨论

葛根黄酮中葛根素具有弱酸性结构特征,经多次实验证明,调整流动相中甲醇浓度,即可使其它杂质峰分离,也可适当调整保留时间,从而使各组分在流动相中因分配比

的差异,而使葛根素色谱峰与前后杂质峰的分明显改善,分离度有所提高。

本方法有较好的稳定性和重现性,分离效果满意,定量准确、简便、快速,可作为该制剂及原料的质量控制方法。