

HPLC 测定参杞杜仲丸中人参皂苷 Rg₁, Re 的含量

王 健*, 李海燕

(河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450003)

[摘要] 目的: 建立用高效液相色谱法同时测定参杞杜仲丸中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量。方法: Lichrospher C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液(199: 801); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 203 nm; 柱温: 30 °C。结果: 该方法回收率人参皂苷 Rg₁ 为 99.39% (RSD 为 2.88%), 人参皂苷 Re 为 99.83% (RSD 为 2.57%)。结论: 该方法简便、准确, 所测结果稳定, 重复性好, 可用于该品种的质量控制。

[关键词] 参杞杜仲丸; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)08-0006-02

参杞杜仲丸由人参、川牛膝、当归等组成, 具有益气补肾的功效, 用于倦怠乏力, 腰膝酸软, 健忘失眠等症。该品种收载于国家药品监督管理局标准(试行) WS-5097(B-0097)-2002^[1], 原标准采用薄层色谱法对其君药人参的有效部位人参皂苷进行了含量测定。薄层色谱法具有重复性差, 干扰因素多的缺点, 本文参照有关文献^[2,3], 采用 HPLC 同时测定参杞杜仲丸中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量。该法分离效果好, 准确可靠, 适用于控制参杞杜仲丸的质量。

1 仪器与试剂

岛津 2010 高效液相色谱仪。乙腈为液相色谱纯, 水为双重蒸馏水, 其它试剂为分析纯。人参皂苷 Rg₁(批号: 0703-200221, 中国药品生物制品检定所); 人参皂苷 Re(批号: 110754-200218, 中国药品生物制品检定所)。参杞杜仲丸由河南仲景保健药业有限公司提供(批号: 031118, 031125, 040109)。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher C₁₈ 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液(199: 801); 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 203 nm。

2.2 阴性对照溶液的制备 按照正文中处方和制剂制备缺人参的阴性对照样品, 并照供试品溶液制备项下的方法制成缺人参的阴性对照溶液。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品 8 mg、人参皂苷 Re 对照品 6 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 供试品溶液的制备 取本品适量, 粉碎成细粉(过 4 号筛), 取 10 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 回流提取 3 h, 放冷, 称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 置水浴上蒸干, 残渣加饱和氯化钠溶液 15 mL 分次溶解, 转移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇振摇提取 6 次, 每次 15 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 4 次, 每次 30 mL, 再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 30 mL, 正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 并加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液。

2.5 专属性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定。阴性对照样品在人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 相应的保留时间无色谱峰干扰。

2.6 线性关系的考察 精密吸取不同浓度的对照品溶液, 注入液相色谱仪, 进样 10 μL, 分别进行测定。以人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液的浓度为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 得回归方程为 $Y = 3\ 208\ 900X + 22\ 837$, $r = 0.999\ 9$; 以人参皂苷 Re 对照品溶液的浓度为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 得回归方程为 $Y = 2\ 775\ 700X + 2\ 565.6$, $r = 0.999\ 7$ 。人参皂苷 Rg₁ 在(0.612 6~ 3.640) μg 范围内线性良好; 人参皂苷 Re 在(0.379 8~ 2.080) μg 范

[收稿日期] 2006-12-25

[通讯作者] * 王健, Tel: (0371) 63388129

围内线性良好。

2.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μ L, 分别进行测定, 结果 RSD 分别为 2.1% 和 2.2%。

2.8 稳定性试验 取供试品 10 g, 照供试品溶液的制备方法进行操作, 制备一份供试品溶液, 于 0, 2, 4, 7, 9 h 后测定。结果人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 在 9 h 内 RSD 分别为 1.04% 和 0.62%。结果表明供试品溶液在 9 h 内稳定。

2.9 重复性试验 取样品 5 份, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法制备, 在上述色谱条件下测定, 结果: 人参皂苷 R_{g_1} 平均含量为 0.164 mg/g, RSD 为 1.80%; 人参皂苷 Re 平均含量为 0.139 mg/g, RSD 为 1.79%。

2.10 加样回收率试验 采用加样回收的方法, 精密称取样品 5 份, 每份约 5 g, 精密加入对照品溶液 (人参皂苷 R_{g_1} 0.836 mg/mL, 人参皂苷 Re 0.719 mg/mL) 各 1 mL, 按供试品溶液的制备方法制备, 照上述色谱条件测定, 结果见表 1~2。

表 1 人参皂苷 R_{g_1} 加样回收率试验结果

样品 取样量 (g)	样品含人参 皂苷 R_{g_1} 量 (mg)	加入人参 皂苷 R_{g_1} 量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
4.751 2	0.778 2	0.836	1.622 4	100.98		
5.824 9	0.954 0	0.836	1.754 4	95.74		
4.765 9	0.780 6	0.836	1.632 0	101.84	99.39	2.88
4.776 7	0.782 3	0.836	1.592 1	96.87		
5.342 8	0.875 0	0.836	1.723 8	101.53		

表 2 人参皂苷 Re 加样回收率试验结果

样品 取样量 (g)	样品含人参 皂苷 Re 量 (mg)	加入人参 皂苷 Re 量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
4.751 2	0.662 7	0.719	1.356 6	96.51		
5.824 9	0.812 5	0.719	1.540 2	101.21		
4.765 9	0.664 7	0.719	1.366 8	97.65	99.83	2.57
4.776 7	0.666 3	0.719	1.397 4	101.68		
5.342 8	0.745 2	0.719	1.479 4	102.11		

2.11 供试品的含量测定 分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。结果见表 3。

表 3 样品中人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 的含量测定结果(mg/g)

批号	人参皂苷 R_{g_1}	人参皂苷 Re	总计
031118	0.163	0.138	0.30
031125	0.148	0.128	0.28
040109	0.164	0.143	0.31

3 讨论

本实验选择了高效液相色谱法测定人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re, 此方法重复性好, 准确度高, 且可同时测定参杞杜仲丸中人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 的含量, 测定时间短, 可作为该制剂的含量测定方法。

对参杞杜仲丸中人参皂苷的提取方法作了比较: (1) 甲醇超声提取, 提取液蒸干后甲醇定容。(2) 按中国药典 2000 年版一部人参项下提取方法操作。(3) 甲醇回流提取, 提取液蒸干后, 用饱和氯化钠溶液溶解, 并用水饱和的正丁醇萃取, 分别用氨试液和正丁醇饱和的水洗涤正丁醇液, 正丁醇液蒸干后甲醇定容。方法(1)、(2)所得供试品溶液基线噪音大, 干扰组分多。方法(3)所得供试品溶液基线噪音小, 干扰组分少。故采用(3)法提取样品。

[参考文献]

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局标准[S]. (试行) WS-5097(B-0097)-2002.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 6.
- [3] 王光忠, 胡迪, 邹阳. RP-HPLC 测定五参芪口服液中人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 的含量[J]. 中成药, 2006, 28(4): 495.