

高效液相色谱法同时测定六味消痔胶囊中 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量

江维克¹, 周涛^{1,2*}

(1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立六味消痔胶囊中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的高效液相色谱测定方法。方法: 色谱柱为 Diamonsil™ (钻石) C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm), 流动相为乙腈-0.05% 磷酸(21: 79), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 203 nm, 柱温为 40 ℃。结果: 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的线性范围分别为(500.5~ 5 002.5) ng 和(201.25~ 2 012.5) ng, 加样回收率分别为 100.15% 和 98.57%, 平均值为 99.70%。结论: 方法简便、重复性好, 便于操作。

[关键词] 高效液相法; 六味消痔胶囊; 人参皂苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)04-0010-03

六味消痔胶囊系由六味消痔片改变剂型而成的新药, 由薯蓣、槐角、决明子、牡蛎(煅)、人参、山豆根等 6 味药材组成^[1], 具有清热消肿, 收敛止血的功能。原片剂质量标准的含量测定仅以人参皂苷 R_{g1} 为指标。本研究采用高效液相色谱法, 同时对人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 进行了含量测定研究, 获得满意效果, 为建立完整的质量标准提供了依据。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪: 岛津 LC-10A_{TVP} 输液泵, SPD-10A_{VP} 紫外检测器, 威玛龙色谱工作站(南宁市威玛龙色谱科技有限公司); HT-230A 色谱柱恒温箱(国产)。岛津 UV-1700 型紫外可见分光光度计, 岛津 AUV220 型(分度值 0.01 mg) 电子天平, TCQ-250 超声波清洗器(北京新惠超声电子研究所), 800 型台式离心机(上海手术器械厂), 电热恒温水浴锅(北京长源实验设备厂)。

人参皂苷 Re 对照品(批号: 754200214); 人参皂

[收稿日期] 2007-01-15

[通讯作者] * 周涛, Tel: (0851) 5926733; E-mail: taozhou88@163.com

昔 R_{g1} 对照品(批号: 703-200221), 均购于中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂为分析纯。样品由贵州弘康药业有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

2.1.1 储备液的配置 精密称取人参皂昔 R_{g1} 对照品 50.050 mg, 人参皂昔 Re 对照品 20.125 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得人参皂昔 R_{g1} 对照品储备液(每 1 mL 含 1.001 0 mg) 及人参皂昔 Re 对照品储备液(每 1 mL 含 0.402 5 mg)。

2.1.2 混合对照品溶液的配制 精密吸取以上两种对照品储备液各 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得人参皂昔 R_{g1} 和人参皂昔 Re 的对照品混合液(每 1 mL 溶液中含人参皂昔 R_{g1} 的量为 0.200 2 mg, 含人参皂昔 Re 的量为 0.080 5 mg)。

2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物 4.0 g, 精

密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 称定重量, 加热回流 3 h, 放冷, 用甲醇补充减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取 25 mL 滤液, 蒸干, 残渣加水 20 mL 溶解, 用乙醚萃取 4 次, 每次 20 mL, 弃乙醚液, 用水饱和正丁醇萃取 4 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去碱液, 正丁醇液用正丁醇饱和水洗脱 2 次, 每次 20 mL, 弃去水液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件 色谱柱: Diamonsil™ (钻石) C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm 5 μm 柱号: 8034813), 流动相, 乙腈-0.05% 磷酸(21: 79), 检测波长, 203 nm, 柱温, 40 °C, 流速, 1.0 mL·min⁻¹, 理论塔板数按人参皂昔 Re 峰计应不低于 35 000。在此条件下人参皂昔 R_{g1} 和人参皂昔 Re 与杂质峰完全分离, 且阴性对照液无影响(图 1)。

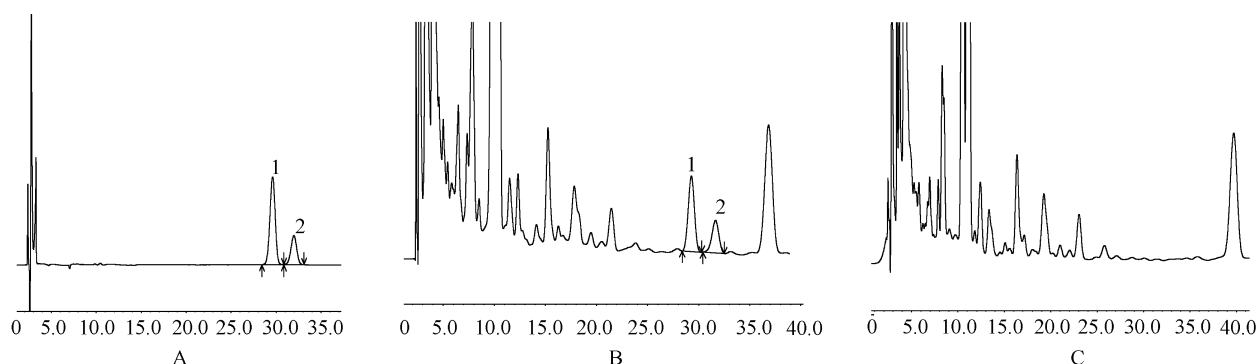


图 1 六味消痔胶囊 HPLC 图

A. 对照品 B. 样品 C. 阴性对照品 1. 人参皂昔 R_{g1} 2. 人参皂昔 Re

2.4 线性关系考察 分别吸取人参皂昔 R_{g1} 和人参皂昔 Re 对照品储备液分别制备成含人参皂昔 R_{g1} 为 0.050 05, 0.100 1, 0.200 2, 0.300 15, 0.400 2, 0.500 25 mg·mL⁻¹; 人参皂昔 Re 为 0.020 125, 0.040 25, 0.080 5, 0.120 75, 0.161 0, 0.201 25 mg·mL⁻¹ 的对照品混合溶液, 各吸取 10 μL 注入色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量(ng) 为横坐标绘制标准曲线。得人参皂昔 R_{g1} 回归方程 $Y = 168.30X - 68.08$, $r = 0.999 9$, 表明人参皂昔 R_{g1} 在进样量为(500.5~ 5 002.5) ng 范围内具有良好的线性关系; 人参皂昔 Re 回归方程 $Y =$

$150.55X - 14.25$, 表明人参皂昔 Re 在进样量为(201.25~ 2 012.5) ng 范围内具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取对照品溶液, 重复进样 5 次, 每次 10 μL, 人参皂昔 R_{g1} RSD 0.63%, 人参皂昔 Re RSD 1.17%, 表明精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取样品细粉 5 份, 每份约 4.0 g, 制备供试品溶液, 分别吸取供试品溶液 10 μL 注入色谱仪中测定含量, 人参皂昔 R_{g1} RSD 0.31%, 人参皂昔 Re RSD 0.61%, 表明本法的重复性良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 h, 吸取 10 μL 注入色谱仪中测

定峰面积, 人参皂苷 Rg_1 RSD 0.92%, 人参皂苷 Re RSD 1.55%, 表明供试品溶液在室温下 10 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验 精密称取已知含量的样品细粉(人参皂苷 Rg_1 含量: 0.044 668%, 人参皂苷 Re 含量: 0.023 612%) 5 份, 每份 2.5 g, 具塞锥形瓶中, 分别加入人参皂苷 Rg_1 (浓度 0.200 2mg/mL) 和人参皂

苷 Re (浓度 0.080 5mg/mL) 的混合液 5 mL, 加入甲醇 45 mL, 按供试品制备方法制备溶液, 分别吸取 10 μ L 注入色谱仪中测定峰面积。结果人参皂苷 Rg_1 和人参皂苷 Re 各自的平均回收率分别为 100.15% 和 98.57%, 总量平均回收率为 99.70%, RSD 为 0.73%, 说明本法测定具有良好的回收率(表 1)。

表 1 回收率实验结果

人参皂苷 Rg_1					人参皂苷 Re					Rg ₁ 和 Re 总量		
样品中含量 (mg)	加入 Rg_1 量 (mg)	测得量 (g)	回收率 (%)	RSD (%)	样品中含量 (mg)	加入 Rg_1 量 (mg)	测得量 (g)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.140 4		2.133 0	99.16		0.602 8		0.999 0	98.43		98.95		
1.072 1		2.059 5	98.64		0.566 7		0.969 4	100.05		99.05		
1.085 7	1.001	2.103 1	101.64	1.27	0.573 9	0.402 5	0.967 4	97.76	0.88	100.53	99.702	0.734 7
1.050 1		2.052 9	100.18		0.555 1		0.950 2	98.16		99.60		
1.081 2		2.093 6	101.14		0.571 6		0.968 0	98.48		100.38		

2.9 样品测定 分别测定批号为 20040701, 20040702, 20040703, 20040704, 20040801, 20040802 共 6 批样品, 其人参皂苷 Rg_1 和人参皂苷 Re 总量为 0.214 2, 0.209 9, 0.212 4, 0.205 2, 0.228 7, 0.216 9 mg/粒。

3 讨论

测定方法研究中, 对色谱系统进行了试验, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-0.05% 磷酸(21:79) 为流动相时, 人参皂苷 Rg_1 和人参皂苷 Re 可以完全分离, 且杂质、阴性无干扰。提取溶液用正丁醇

萃取后, 再用氨试液洗涤后杂质明显减少, 有利于色谱测定。

[参考文献]

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准—新药转正标准[S]. 27, WS₃-051(Z-010)-2000(Z).
- [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, 2005. 7.
- [3] 胡晓斌, 李颖, 吴苏澄, 等. 生脉胶囊中人参皂苷 Rg_1 、Re 的 HPLC 测定[J]. 中药新药与临床药理, 2003, (1): 49.