

补肾斑龙片中人参皂苷 Rg_1 的 HPLC 测定

王隶书, 程东岩, 朱 杰

(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要: 目的: 建立补肾斑龙片中人参皂苷 Rg_1 的含量测定方法。方法: HPLC 法, 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸水溶液(20.5:79.5); 检测波长为 203nm; 柱温 40℃。结果: 人参皂苷 Rg_1 线性范围为 0.32 μ g~3.82 μ g, 平均回收率 99.6%, RSD 为 2.04%。结论: 方法可靠, 简单可行, 为控制补肾斑龙片的内在质量提供了科学依据。

关键词: 补肾斑龙片; 人参皂苷 Rg_1 ; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)06-0024-02

补肾斑龙片收载于部颁标准上(WS₃-B-0559-91), 具有补肾壮阳, 填精益髓之功效。用于肾虚, 阳痿, 早泄, 遗精, 性欲减退等症有较好疗效。但其质量标准无任何定性鉴别及含量测定项目, 为更好地控制其内在质量, 确保其临床疗效稳定可靠, 我们以高效液相色谱法测定了本品中主要有效成分人参皂苷 Rg_1 的含量, 为控制其质量提供了科学依据。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, 紫外检测器; 日立 U-3400 型分光光度计; 人参皂苷 Rg_1 对照品, 由中国药品生物制品检定所购入(供含量测定用, 批号 0753-200111); 补肾斑龙片, 本院新药中心剂型研究室制备; 所用试剂乙腈为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 岛津 ODS-C₁₈ 柱(4.6mm × 150mm, 4 μ m), 乙腈-0.4% 磷酸水溶液(20.5:79.5)为流动相; 检测波长为 203nm; 柱温 40℃。理论板数按人参皂苷 Rg_1 计算应不低于 4000。在此条件下, 人参皂苷 Rg_1 和样品中的其它物质可以得到良好的分离, 而阴性液无干扰。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg_1 对照品 6.36mg, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约 2g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加水饱和和正丁醇 40mL, 超声处理 40min, 滤过, 以水饱和和正丁醇 10mL 分两次洗涤滤渣, 洗液与滤液合并, 移置分液漏斗中, 以正丁醇饱和的 5% 氢氧化钠溶液洗涤三次, 每次 15mL, 分取正丁醇层, 再以水

10mL 洗涤一次, 弃去洗液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 移至 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μ m) 滤过, 作为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液 0.25 0.75 1.50 2.25 3.00mL, 分别置 5mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为系列对照品溶液。分别吸取上述五份对照品溶液各 10 μ L, 按选定色谱条件进样, 测定, 以进样量(μ g) 为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标绘制标准曲线, 回归方程: $Y = -283.07 + 159700X$, $r = 0.9997$ 。结果表明, 人参皂苷 Rg₁ 在 0.32 μ g~ 3.82 μ g 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μ L, 在上述同一色谱条件下, 连续进样 5 次, 测定 RSD= 1.88% ($n = 6$), 证明精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液在 0.2、4、6、8h 分别进样, 进行测定, 结果其 RSD= 1.73%, 可见供试品溶液中人参皂苷 Rg₁ 在 8h 内含量稳定。

2.7 重复性试验 分别称取本品同一批号样品 6 份, 按供试品溶液制备方法制备, 依法进样测定, 结果 RSD= 2.01% ($n = 6$), 说明本方法重复性良好。

2.8 回收率实验 在已知含量的样品粉末中, 定量加入一定量的人参皂苷 Rg₁ 对照品, 按供试品溶液制备方法制备, 进样, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

本方法平均回收率 99.6%, 且 RSD < 3%, 说明本方法回收率良好。

2.9 样品的含量测定 分别称取不同批号的样品, 分别按供试品溶液制备方法制备, 另称取人参皂苷 Rg₁ 对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.1mg 的溶

液, 作为对照品溶液。

分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。依法测定 5 批样品, 结果如表 2。

表 1 人参皂苷 Rg₁ 回收率测定结果

编号	样品称量 (g)	样品原有量 (mg)	加入对照品 量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{x}	RSD (%)
1	2.0698	0.453	0.52	0.979	101.1		
2	2.0492	0.448	0.52	0.979	102.1		
3	1.8967	0.415	0.52	0.929	98.8	99.6	2.04
4	2.0187	0.442	0.52	0.958	99.2		
5	2.0209	0.442	0.52	0.946	96.9		

表 2 补肾斑龙片中人参皂苷 Rg₁ 的测定结果

样品批次	人参皂苷 Rg ₁ 含量(mg/粒)
020402	0.105
020409	0.095
020418	0.114
020517	0.142
020522	0.081

3 讨论

在供试品溶液制备过程中, 曾对甲醇热回流提取配和大孔树脂除杂、甲醇超声提取等多种制备方法进行比较, 结果表明采用水饱和正丁醇超声提取配合以正丁醇饱和的 5% 氢氧化钠溶液及水洗涤的处理方法最优, 此法简单易行, 重复性好, 杂质干扰小, 故被采用。

参考文献:

- [1] 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.