

复方降糖胶囊中人参皂苷 R_{g1} 定量分析方法研究

朱胤龙, 陈 萍

(陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003)

摘要:目的: 建立复方降糖胶囊中人参皂苷 R_{g1} 的定量分析方法。方法: 高效液相色谱法。以 C₁₈ ODS 柱分析, 流动相: 乙腈/水 (22/78); 检测波长: 203nm; 流速: 1.2mL/min; 柱温: 40℃; 灵敏度: 0.02AUFS。结果: 人参皂苷 R_{g1} 含量在 0.12~1.20μg, 呈良好的线性关系。平均回收率均大于 > 98% (RSD < 1%)。结论: 本法简便、准确、重复性好, 可作为该胶囊的质量控制。

关键词: 复方降糖胶囊; 人参皂苷 R_{g1}; 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)02-0019-03

降糖胶囊具有健脾胃, 止渴饥, 降血糖, 益胰等功效, 用于治糖尿病及糖尿病引起的各种并发症, 由人参、黄芪、五味子、玉竹、补骨脂等 7 味中药组成。为更好地控制该药的质量, 选用人参中人参皂苷 R_{g1} (C₄₂H₇₂O₁₄) 成分作为定量指标^[1], 目前已知的人参皂苷的分析方法较多^[2,3], 本文采用高效液相色谱仪 (HPLC) 进行了样品中人参皂苷 R_{g1} 含量测定。该方法简便、准确、重复性好。

1 仪器与试剂

美国 WATERS 公司高效液相色谱仪: 510 型高效液相泵, 490E 型 UV 检测器, U6K 进样阀, 820 色谱数据工作站, TCM 柱温控制器, MILLIPORE 溶剂过滤器, 微量注射器 (10μL, 25μL, 100μL)。十万分之一分析天平 (上海第一分析仪器厂), Galaxy110 型万分之一电子天平 (美国 OHAUS 公司), Cole-Pamer 公司 8892 型超声波仪器 (德国)

人参皂苷 R_{g1} 对照品, 中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定使用, 纯度 ≥ 98%。甲醇、乙腈为色谱纯溶剂 (德国 MERCK 公司), 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。降糖胶囊: 每粒 0.31g。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 R_{g1} 对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.06mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 粒, 混匀内容

物, 精密称取细粉 5g, 加入乙醚 40mL, 浸泡 3h, 滤过, 药渣挥干乙醚, 再用氯仿 40mL, 加热回流 1h, 弃去氯仿液, 药渣挥干溶剂, 精密加入水饱和正丁醇 50mL, 称重, 放置过夜 (12h), 超声处理 60min, 放冷, 补足重量, 混匀, 滤过。精密吸取续滤液 25mL 于 250mL 分液漏斗中, 用 1% 氨试液洗涤 2 次, 每次 25mL, 放置分层, 合并洗涤液, 以水饱和正丁醇再回提 1 次, 合并正丁醇提取液, 置水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45μm) 过滤, 取滤液作为供试品溶液。

2.3 阴性对照液的制备 按处方比例称取除去人参的其它药材适量, 依照降糖胶囊制备工艺和供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.4 色谱条件及系统适用性 色谱柱: μBondpack C₁₈ (4.6mm × 300mm); 检测波长: 203nm; 流动相: 乙腈/水 (22/78); 流速: 1.2mL/min; 柱温: 40.0℃; 灵敏度: 0.02AUFS。以人参皂苷 R_{g2} 峰计算, 理论板数 > 3500, 分离度 > 1.3。

在上述条件下, 吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性溶液各 10μL, 分别注入 HPLC 色谱仪。供试品色谱中, 在与对照品色谱图相应的位置上, 有一相同色谱峰, 而阴性液则在此保留时间无干扰。样品中人参皂苷 R_{g1} 与相邻峰均能达到较好分离。见图 1、2、3。

2.5 线性关系考察 精密称取人参皂苷 R_{g1} 对照品适量, 制成浓度为 60.00μg/mL 的甲醇溶液。依法进样 2.4、8、12、20μL, 测定峰面积积分值, 以对照品进样量 (μg) 为横坐标, 以其峰面积积分值为纵坐标, 绘制工作曲线, 经回归分析, 当人参皂苷 R_{g1} 含量在

0.12~ 1.20 μ g 时,工作曲线成良好的线性关系。

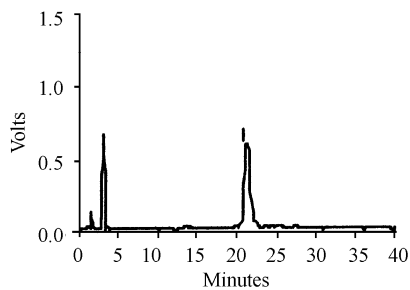


图 1 人参皂苷 R_{g1}

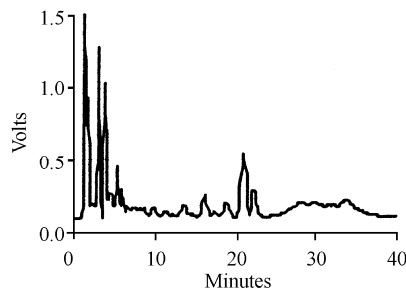


图 2 供试品色谱

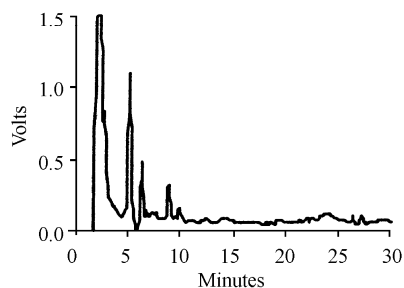


图 3 阴性色谱图

回归方程 $Y = 45367X + 0.042$, $r = 0.9986$

2.6 稳定性试验 取同 1 批号供试品溶液,按上述测定方法在同 1d 内,每隔 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24h 分别测定 1 次,观察色谱峰面积积分值变化情况。测和得的人参皂苷 R_{g1} 峰面积的 RSD 2.22% ($n = 6$)。供试品溶液在 24h 内测定,结果稳定。

2.7 精密度试验 精密吸取供试品溶液,按上述方法重复进样 5 次,每次进样 10 μ L,人参皂苷 R_{g1} 峰面积的 RSD 为 2.24% ($n = 5$)。

2.8 重复性试验 取同一批供试品,平行操作 5 份,按上述样品制备方法制备供试品溶液,进样 10 μ L,分别测定人参皂苷 R_{g1} 峰面积,计算含量,结果每粒胶囊平均含量为 0.099mg, RSD 为 3.36% ($n = 5$)。

2.9 加样回收实验 在实际样品测定基础上,取已知含量的样品,分别定量加入人参皂苷 R_{g1} 对照品,于测定前稀释 10 倍,按上述样品处理方法与色谱条件,测定,计算,该方法有良好的回收率。结果见表

1。

表 1 加样回收试验

名称	样品中含 量(μ g)	加入量 (μ g)	测得值 (μ g)	回收率 (%)	平均值回 收率(%)	RSD (%)
		-	-	100.00		
		6.00	177.87	97.80		
人参皂 苷 R _{g1}	172.00	12.00	183.76	98.00	98.33	0.95
		24.00	195.74	98.90		
		48.00	218.80	97.50		
		96.00	265.89	97.80		

2.10 降糖胶囊含量测定及含量限度的确定 按上述含量测定方法对 3 批样品中 R_{g1} 含量进行测定,结果见表 2。

表 2 复方降糖胶囊 R_{g1} 含量测定结果

批号	测得值(mg/粒)	平均含量(mg/粒)	RSD(%)
	0.168		
010409	0.173	0.171	1.48
	0.170		
	0.169		
010416	0.175	0.172	2.20
	0.176		
	0.163		
010423	0.173	0.168	3.09
	0.166		

3 批含量测定结果的平均值为 0.170mg/粒,考察到人参因种类、产地、采收季节等条件的影响,药材中人参皂苷 R_{g1} 含量存在差异,在制剂中影响得率的因素亦较多,故暂定质量标准为本品每粒含人参皂苷 R_{g1} 不得少于 0.136mg。

2.11 人参药材含量测定 取人参粉末 1g,置索氏提取器中,加氯仿 40mL,回流 3h,弃去氯仿,药渣挥干氯仿,连同滤纸筒移入具塞锥形瓶中,精密加少量水饱和正丁醇 50mL,密塞,放置过夜,超声处理 30min(250W, 50Hz),滤过,精密量取续滤液 25mL,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5mL 量瓶中,加甲醇至刻度,即得。按上述色谱条件进样 10 μ L,药材中人参皂苷 R_{g1} 平均含量为 0.25%, RSD 1.67% ($n = 5$)。

3 讨论

流动相选择 确保 HPLC 分析具有一定的理论塔板数和分离度,实验选用了多种溶剂系统,如不同比例甲醇:水、乙腈:水:磷酸(30:70:0.1)、乙腈:甲醇:水(20:20:60)、乙腈:水(22:78)等,实验发现水比

例加大可提高分离度。但考虑到分析时间等因素,我们选用了乙腈:水(22:78)为流动相,测得的理论板数以人参皂苷 Rg_1 计为 5200,分离度大于 1.3。

检测波长 测定人参皂苷 Rg_1 的波长有 204nm、207nm、210nm,实验在 190~213nm 范围对人参皂苷 Rg_1 对照品溶液进行扫描, Rg_1 有 2 个吸收峰 203nm、207nm,确定为 203nm。

供试品溶液制备方法 采用多种提取方法:(1)用氯仿除杂质,再用正丁醇提,然后过 D_{101} 大孔树脂吸附,用 70% 乙醇洗脱。结果:杂质多。 Rg_1 未能明显分离出来。(2)用乙醚、氯仿除挥发性及脂溶性杂质,再用正丁醇提,用氨试剂处理,然后通过 D_{101} 大孔树脂吸附,用 70% 乙醇洗涤;结果:分离好,但操作繁琐,含量检测值低,且重复性差。(3)用乙醚、氯仿提后,用正丁醇提取,然后用氨试剂洗涤杂质,结

果:分离好,峰对称性好,检出灵敏。故实验选用第 3 种提取方法,此条件下杂质峰干扰最小,人参皂苷 Rg_1 可较好分离且检测灵敏。

本文建立的复方降糖胶囊中人参皂苷 Rg_1 的定量测定方法,为其质量控制提供了科学、有效的检测手段。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 广州: 广东科技出版社, 2000. 附录 XI, 38-40.
- [2] 朱萱萱, 茅泳雯, 何润霞, 等. 反相 HPLC 法测定药用人参中多种人参皂苷的含量[J]. 中国生化药物杂志, 1998, 19(1): 28-30.
- [3] 张小茜, 周富荣. 双波长薄层扫描测定乳辟消胶囊中人参皂苷 Rg_1 的含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(5): 382-384.