

反相高效液相色谱法测定蒺藜胶囊中人参皂苷含量

周海欧^{*}, 解生旭, 刘悦, 司云杉, 徐雅娟
(吉林省中医药科学院, 长春 130021)

[摘要] 目的: 建立测定蒺藜胶囊中人参皂苷 Re、Rg₁ 含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定, 色谱柱为 Novapark C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温 35℃, 乙腈-0.05% 磷酸溶液(20:80)为流动相; 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm; 进样量 10 μL。结果: 人参皂苷 Re 进样量在 1.92 ~ 7.68 μg 与峰面积呈良好的线性关系 $r = 0.9997$; 人参皂苷 Rg₁ 进样量在 1.12 ~ 5.60 μg 与峰面积呈良好的线性关系 $r = 0.9998$ 。平均回收率 97.63%, RSD 2.17% ($n = 5$)。结论: 该方法简便、可靠、准确, 可用于控制蒺藜胶囊的质量。

[关键词] 蒺藜胶囊; 人参皂苷 Re 和 Rg₁; 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(2010)08-0072-02

蒺藜胶囊是由人参叶、蒺藜、丹参等组成, 作者在以前研究资料中只测定了蒺藜胶囊中人参皂苷 Re 的含量, 后建立了蒺藜胶囊中人参皂苷 Re、Rg₁ 的含量同时测定方法, 来控制蒺藜胶囊的质量。

1 仪器与试剂

Waters600 高效液相色谱仪(美国); Waters486 紫外吸收检测器(美国); H2000 色谱工作站(浙江大学); 梅特勒 AG245 电子分析天平(瑞士)。人参皂苷 Re 对照品(供含量测定, 中国药品生物制品检定所提供, 批号 754-200013), 人参皂苷 Rg₁ 对照品(供含量测定, 中国药品生物制品检定所提供, 批号 0703-200117), 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher), 甲醇等其他试剂均为分析纯; 水为纯化水。蒺藜胶囊自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Novapark C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温 35℃; 乙腈-0.05% 磷酸溶液(20:80)为流动相; 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm; 进样量 10 μL。人参皂苷具有末端吸收, 故吸收波长选为 203 nm。理论塔板数按人参皂苷 Re 峰计, 不得低于 2000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品与 Re 对照品适量, 加甲醇分别制成每 1 mL 含人参皂苷 Rg₁ 0.28 mg、人参皂苷 Re 0.48 mg 的溶

液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 粒, 倾倒入内容物, 混匀, 取约 1.0 g 精密称定, 置索氏提取器中, 加三氯甲烷 60 mL, 加热回流提取 1 h, 弃去三氯甲烷液, 药渣挥去三氯甲烷后, 加甲醇 60 mL, 加热回流 3 h, 提取液浓缩至干, 残渣加水 50 mL 分次转移至分液漏斗中, 以水饱和正丁醇提取 5 次, 每次 50 mL, 合并正丁醇层, 浓缩至 50 mL, 以 30% 氨水提取 3 次, 每次 30 mL, 弃去氨水液, 正丁醇层浓缩至干, 残渣加甲醇溶解至 25 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 即得。

2.4 线性关系的考察和标准曲线 取人参皂苷 Re 对照品溶液, 分别精密吸取 4, 7, 10, 13, 16 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定色谱峰峰面积, 作样品浓度和吸收峰面积的关系曲线, 样品浓度在 1.92 ~ 7.68 μg 呈线性关系, 回归方程 $Y = -3014.15 + 78487.89X$, $r = 0.9997$ 。取人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液, 分别精密吸取 4, 8, 12, 16, 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定色谱峰峰面积, 作样品浓度和吸收峰面积的关系曲线, 样品浓度在 1.12 ~ 5.60 μg 呈线性关系, 回归方程 $Y = 15942.35 + 88856.62X$, $r = 0.9998$ 。

2.5 精密度测定 精密吸取供试品溶液 10 μL (20001001), 重复进样 5 次, 测定色谱峰峰面积, 人参皂苷 Re 的峰面积的 RSD 2.12%, 对应人参皂苷 Rg₁ 的峰面积 RSD 1.74%。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL (20001001), 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 检测色谱峰峰面积, 结果人参皂苷 Re 峰面积的 RSD 3.09%, 人

[收稿日期] 20100131(002)

[通讯作者] 周海欧, 副主任药师, 主要从事药物质量检测,
E-mail: xyj6492@sohu.com

参皂苷 Rg_1 峰面积 RSD 3.45%。

2.7 重复性试验 取同一批号(20001001)样品内容物,均分 5 份,精密称定,分别按本品质量标准含量测定项下操作,测定,计算,人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg_1 总质量分数平均值 5.99 mg/粒, RSD 2.73%。

2.8 回收率试验 取已知含量的样品(批号 20010101, 人参皂苷 Re + Rg_1 质量分数为 15.41 mg/g) 5 份,精密称定,分别精密加入人参皂苷 Re 约 5.0 mg, 人参皂苷 Rg_1 约 3.0 mg, 按本品质量标准含量测定项下操作测定, 计算回收率, 平均回收率 97.63%, RSD 2.17%。结果见表 1。

表 1 人参皂苷 Re, Rg_1 回收率试验 (n = 5)

取样量/g	样品 Re + Rg_1 含量/mg	对照品加入量/mg Rg_1	Re	Re, Rg_1 加入总量/mg	Re + Rg_1 测得量/mg	回收率/%
0.629 9	9.706 8	3.13	5.10	8.23	17.593	95.82
0.669 3	10.313 9	2.97	5.01	7.98	18.359	100.82
0.677 0	10.432 6	3.24	4.94	8.18	18.341	96.68
0.692 7	10.674 5	2.98	5.04	8.02	18.385	96.14
0.692 1	10.665 3	2.91	5.08	7.99	18.554	98.73

2.9 阴性试验 精密吸取供试品溶液, 阴性对照溶液(缺人参的模拟处方按制备工艺相同方法制备) 和对照品溶液, 按照含量测定方法项下测定, 结果表明, 在与对照品人参皂苷 Re 和 Rg_1 色谱峰相同保留时间处, 阴性对照溶液无吸收色谱峰。

2.10 样品含量测定 按本品质量标准含量测定项下的操作方法测定 4 批样品, 结果见表 2。

表 2 4 批临床研究用样品人参皂苷 Re,

Rg_1 的质量分数 mg/粒

批号	人参皂苷 Rg_1		人参皂苷 Re		Re + Rg_1
050301	1.55	1.50	4.30	4.22	5.785
050302	1.59	1.71	4.31	4.36	5.985
050303	1.67	1.53	4.29	4.21	5.850
050501	2.05	2.21	4.17	4.10	6.265

3 讨论

本文参照中国药典和文献报导的人参皂苷的色谱条件, 试验了以下 3 种流动相: 甲醇-水(65 35); 乙腈-0.05% 磷酸溶液(20 80); 乙腈-0.05% 磷酸溶液(18 82)。结果表明, 第 2 种流动相对人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rg_1 色谱峰的分离效果最佳, 无干扰, 故选用乙腈-0.05% 磷酸溶液(20 80) 为流动相(见图 1)。

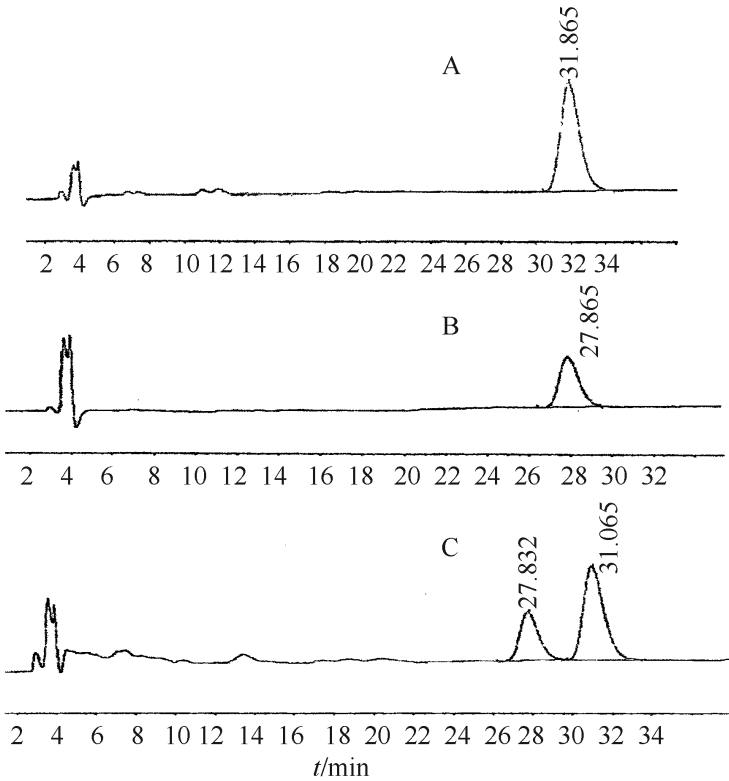


图 1 人参皂苷含量测定 HPLC 色谱

A. 人参 Re; B. 人参 Rg_1 ; C. 供试品

人参为芪参胶囊的君药, 人参皂苷 Re 和 Rg_1 为其主药的有效成分。本文通过使用高效液相法对人参皂苷 Re 和 Rg_1 含量总和的测定, 作为控制芪参胶囊质量的指标。

[责任编辑 仝燕]