

高效液相色谱法测定理中汤配方颗粒中人参皂苷含量*

刘俊达¹, 胡昌江², 李兴华²

(1. 成都理工大学材料与化学化工学院, 四川 成都 610059; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075)

摘要:目的 建立理中汤配方颗粒中人参皂苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱 (HPLC) 法, 以 Diamonsil - C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 为分析柱, 流动相为乙腈 - 0.05% 磷酸溶液 (99:400), 检测波长为 203 nm, 流速为 1.00 mL/min, 柱温为 25℃。结果 进样量线性范围 人参皂苷 R_{g1} 为 0.992 ~ 6.944 μg ($r=0.9999$), 人参皂苷 R_c 为 0.819 2 ~ 5.734 4 μg ($r=0.9998$)。人参皂苷 R_{g1} 平均回收率为 97.24%, RSD 为 1.33% ($n=9$); 人参皂苷 R_c 平均回收率为 97.21%, RSD 为 1.16% ($n=9$)。结论 该方法可靠、准确、简便。

关键词: 理中汤配方颗粒; 人参皂苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号 R284.1 R286.0

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2007)05-0022-02

Determination of Ginsenoside in Lizhongtang Compatible Granule by HPLC

Liu Junda¹, Hu Changjiang², Li Xinghua²

(1. College of Materials and Chemistry and Chemical Engineering, Chengdu University of Technology, Chengdu, Sichuan, China 610059;

2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu, Sichuan, China 610075)

Abstract: Objective To establish the determination method of ginsenoside content in Lizhongtang compatible granule. Methods The Diamonsil - C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile - 0.05% phosphoric acid (99:400) and the detecting wavelength was at 203 nm. The flow rate was 1.00 mL/min and the column temperature was 25℃. Results The linear range of ginsenoside R_{g1} content determination was 0.992 - 6.944 μg, $r=0.9999$. The linear range of ginsenoside R_c content determination was 0.819 2 - 5.734 4 μg, $r=0.9998$. The average recovery rate of ginsenoside R_{g1} was 97.24%, RSD = 1.33% ($n=9$). The average recovery rate of ginsenoside R_c was 97.21%, RSD = 1.16% ($n=9$). Conclusion The method is reliable, accurate and simple.

Key words: Lizhongtang compatible granule; ginsenoside; HPLC; content determination

理中汤来源于《伤寒论》,由干姜、人参、炙甘草、白术组成,具有温中散寒、补气健脾的功效,为中医治疗脾胃虚寒的经典方。理中汤配方颗粒保持了中医辨证论治、随证加减的特点,又克服了汤剂煎汤麻烦、保存不便等缺点。为了有效控制其质量,笔者采用高效液相色谱 (HPLC) 法对其中的人参皂苷进行了含量测定,现报道如下。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪,包括 G1311A 四元梯度泵、G1322A 脱气机、G1316A 柱温箱、G1313A 自动进样器、G1315A 二极管阵列紫外检测器;HP Chem Station 6.04 软件包;赛多利斯 Bp211DAG 电子天平 (德国 Sartorius);CX-100 超声波清洗器 (北京医疗设备二厂)。对照品人参皂苷 R_{g1} 批号为 0703-9611,人参皂苷 R_c 批号为 0754-200216 (中国药品生物制品检定所)。乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。理中汤配方颗粒 (四川绿色药业科技发展有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1]与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.05% 磷酸溶液 (99:400); 检测波长: 203 nm; 流速: 1.00 mL/min; 柱温: 25℃; 灵敏度: 0.005 AUFS。在选定的条件下,人参皂苷 R_{g1}, R_c 和样品中其他组分色谱峰可基线分离,人参皂苷 R_{g1}, R_c 与相邻色谱峰的分离度 (R) 大于 1.50,按人参皂苷 R_c 色谱峰计算,理论塔板数 (N) 大于 2500,拖尾因子 (T) 在 0.95 ~ 1.05 之间,且阴性样品溶液无干扰。色谱图见图 1。

2.2 溶液制备

取人参皂苷 R_{g1}, R_c 对照品适量,精密称定,置 25 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液 (每 1 mL 含人参皂苷 R_{g1} 对照品 0.496 0 mg,每 1 mL 含人参皂苷 R_c 对照品 0.409 6 mg)。取理中汤配方颗粒约 2 g,精密称定,置索氏提取器

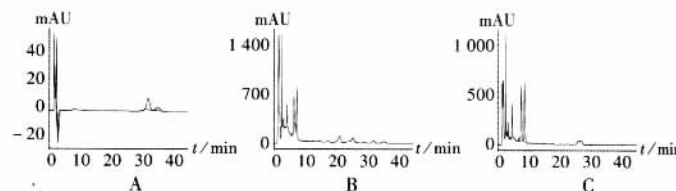


图 1 高效液相色谱图
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性样品溶液

中,加氯仿 40 mL,加热回流 3 h,弃去氯仿液,连同滤纸移入具塞锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇 50 mL,称定质量,超声提取 45 min,放冷至室温,再称定质量,用水饱和正丁醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过,即得供试品溶液。按处方量制备不含人参的阴性样品,按供试品溶液的制备方法,同法制备即得阴性样品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 按上述色谱条件,精密吸取人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 的混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积值 (A) 对进样量 (C) 进行回归,得标准曲线方程,人参皂苷 R_{g1} 为 $A=1.8074+204.7730C$ ($r=0.9999$), 人参皂苷 R_c 为 $A=1.0299+126.8516C$ ($r=0.9998$)。结果表明,人参皂苷 R_{g1} 进样量在 0.992 ~ 6.944 μg,人参皂苷 R_c 进样量在 0.819 2 ~ 5.734 4 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

精密度试验: 精密吸取上述对照品溶液 6 μL,重复进样 5 次。结果人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 0.76% 和 0.97%,表明仪器的精密度良好。

重现性试验: 取同一批样品 (批号为 050305) 5 份,分别按供试品溶液的制备方法制备,进样 10 μL,测定峰面积,计算含量。结果人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 含量的 RSD 分别为 1.53% 和 1.52%,表明该方法重现性良好。

* 国家“十五”重大科技专项,项目编号 2001BA701A40-1。

健胃消炎颗粒的质量标准研究

庄明蕊,徐丽华

山东省药品检验所,山东 济南 250012)

摘要:目的 控制健胃消炎颗粒的产品质量,确保其临床疗效。方法 增加了君药党参的薄层鉴别方法 (TLC 法),同时采用高效液相色谱 (HPLC)法对该药中白芍、赤芍的有效成分芍药苷进行了含量测定。结果 TLC 法样品分离效果好、简便易行,HPLC 法精密度高、稳定性和重现性好,芍药苷进样量线性范围为 0.108 6~0.543 μg 。结论 该方法可以控制产品质量。

关键词:健胃消炎颗粒 薄层鉴别 高效液相色谱法 芍药苷

中图分类号 R284.1 R286.0 文献标识码 A 文章编号 1006-4931(2007)15-0023-02

Research on Quality Standard of Jianweixiaoyan Granule

Zhuang Mingrui, Xu Lihua

(Shandong Provincial Institute for Drug Control, Jinan, Shandong, China 250012)

Abstract: Objective To control the product quality of Jianweixiaoyan granule and to guarantee its effect in clinical application. Methods TLC scanning method was developed to detect the radix codonopsis as primary constituents of Jianweixiaoyan granule, at the same time, the effective content of paeoniflorin in radix paeoniae alba and radix paeoniae rubra of this medicine was determined by HPLC. Results The separation effect for samples by using TLC scanning was good, convenient and feasible. The calibration curve was linear in the range of 0.108 6~0.543 μg for paeoniflorin. HPLC method is accurate, stable and reproducible. Conclusion The method can be used to control the product quality of Jianweixiaoyan granule.

Key words: Jianweixiaoyan granule; TLC scanning; HPLC; paeoniflorin

健胃消炎颗粒为卫生部药品标准 第 17 册) 载的品种,主要由党参、白芍、赤芍、茯苓、白术 麸炒)、丹参等中药组成,具有健脾和胃、理气活血等功效,用于治疗脾胃不和所致的上腹疼痛、痞满纳差以及慢性胃炎等。由于该药成分较多,且相互之间彼此影响,为了控制产品质量,确保临床疗效,笔者增加了鉴别君药党参的薄

层色谱(TLC)法,同时又采用高效液相色谱 (HPLC)法对该药中白芍、赤芍的有效成分芍药苷进行了含量测定,现报道如下。

1 仪器与试剂

硅胶 G (青岛海洋化工有限公司);TSP P4000-UV1000-AS3000 高效液相色谱仪。健胃消炎颗粒 山东步长制药有限公

稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8 h 时进样 10 μL ,测定峰面积,计算含量。结果人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 含量的 RSD 分别为 0.87% 和 1.20%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

加样回收试验:取 9 份已知含量的样品(批号为 050305,人参皂苷 R_{g1} 含量为 1.527 mg/g,人参皂苷 R_c 含量为 1.863 mg/g)约 0.4 g,精密称定,分成 3 组,每组分别加入人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 的混合对照品溶液(人参皂苷 R_{g1} 含量为 0.818 mg/mL,人参皂苷 R_c 含量为 0.902 mg/mL)0.6,0.8,1.0 mL。按供试品溶液的制备方法制备,进样 10 μL 测定峰面积,计算回收率,结果见表 1。

表 1 人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 加样回收试验结果 ($n=9$)

取样量/g	样品含量/mg		加入量/mg		测得量/mg		回收率/%		$\bar{x}/\%$		RSD/%	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.401 9	0.613 7	0.748 7	0.490 8	0.541 2	1.088 5	1.275 0	96.73	97.24				
0.423 6	0.646 8	0.789 2	0.490 8	0.541 2	1.115 8	1.310 5	95.56	96.33				
0.377 6	0.576 6	0.703 5	0.490 8	0.541 2	1.061 4	1.220 2	98.77	95.47				
0.398 7	0.608 9	0.742 8	0.654 4	0.721 6	1.243 9	1.449 7	97.04	97.96				
0.402 3	0.614 4	0.749 5	0.654 4	0.721 6	1.255 2	1.445 6	97.92	96.47	97.24	97.21	1.33	1.16
0.437 0	0.667 3	0.814 1	0.654 4	0.721 6	1.295 7	1.525 2	96.03	98.55				
0.412 8	0.630 3	0.769 0	0.818 0	0.902 0	1.434 1	1.642 2	98.27	96.81				
0.388 7	0.593 5	0.724 1	0.818 0	0.902 0	1.377 9	1.617 3	95.89	99.02				
0.398 2	0.608 1	0.741 8	0.818 0	0.902 0	1.417 8	1.617 3	98.98	97.06				

注:A 为人参皂苷 R_{g1} ,B 为人参皂苷 R_c ,下表同。

2.4 样品含量测定

取 3 批样品,分别按供试品溶液的制备方法,制备待测溶液。分别进样 10 μL ,测定峰面积,计算含量。结果见表 2。

3 讨论

表 2 样品含量测定结果 ($n=2$)

批号	含量/mg/g		RSD/%	
	A	B	A	B
050301	1.18	1.753	1.07	1.22
050305	1.534	1.871	1.12	0.98
050310	0.552	1.065	1.33	1.34

3.1 系统研究中药经方配方颗粒,使其质量稳定、可控,服用、携带方便,疗效可靠,同时保持中医辨证施治、随证加味的优势,是改革中医传统用药方式的新探索。

3.2 理中汤主治脾胃虚寒之证,其中人参皂苷 R_{g1} 、 R_c 为人参的主要成分,现代研究资料表明其具有全面增强机体的免疫功能、抗炎等多种药理作用,是针对脾胃虚寒证的虚证。故对其进行含量测定,是控制理中汤配方颗粒质量的方法之一。

3.3 人参皂苷的含量测定,已报道的有 HPLC 法、薄层扫描法等多种方法^[3]。由于 HPLC 法具有分离效能高、灵敏、准确等优点,同时又是药典采用的方法,故笔者采用该方法来建立理中汤配方颗粒中人参皂苷 R_{g1} 、 R_c 的含量测定方法。试验中曾采用甲醇、水饱和正丁醇、乙醇等有机溶剂提取制剂中的人参皂苷 R_{g1} 和 R_c ,但效果均不理想,脂溶性杂质较多,使人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 与其他峰不能达到基线分离。由于制剂中人参为药材微粉,参照 2005 年版《中国药典(一部)》人参项下人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 含量测定方法选用氯仿回流提取脱脂,再用水饱和正丁醇提取。试验中还比较了水浴回流和超声两种提取方法,由于采用超声提取测得供试品中人参皂苷 R_{g1} 和 R_c 的含量显著高于水浴回流提取,分析原因可能是水饱和正丁醇沸点较高,而人参皂苷对热不够稳定,故选择超声法提取。

作者简介:刘俊达,男,硕士,从事中药炮制与制剂方面研究与教学工作,电子邮箱 liujunda1129@hotmail.com。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:7-8.
- [2] 段富津. 方剂学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995:100-101.
- [3] 曹泰山,王丹. 人参皂苷 R_{g1} 与 人参皂苷 R_c 含量测定方法的研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(8):739-740.

(收稿日期 2007-05-10)