

质量分数为 0.863 9 mg/g, RSD 为 2.35% ( $n=5$ )。

2.9 稳定性试验:取同一样品,制备供试品溶液,分别于 0、1、2、4、6 h 进样,每次 5  $\mu$ L,结果岩白菜素质量分数的 RSD 为 0.53%,说明供试品溶液中岩白菜素在 6 h 内是稳定的。

2.10 回收率试验:精密量取已测定含量的同一供试品(岩白菜素质量分数为 0.863 9 mg/g)5 份,各 0.75 g,加入岩白菜素对照品适量,制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 5  $\mu$ L 进样,测定,结果岩白菜素的平均回收率为 101.6%,RSD 为 1.44%。

2.11 样品测定:取本品 10 批,制备供试品溶液,分别取供试品溶液和对照品溶液各 5  $\mu$ L,进样测定,结果见表 1。可见 10 批样品中岩白菜素在 0.42~0.85 mg/g,故定本品以岩白菜素( $C_{14}H_{16}O_9$ )计不得低于 0.40 mg/g。

表 1 七神喉痹通颗粒中岩白菜素测定结果 ( $n=2$ )

Table 1 Determination of bergenin in Qishen Houbitong Granule ( $n=2$ )

批 次	岩白菜素 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	批 次	岩白菜素 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
20000125	0.46	20010614	0.46
20000316	0.43	20011106	0.48
20000314	0.42	20020312	0.42
20000706	0.53	20020324	0.85
20000311	0.45	20020327	0.78

### 3 讨论

3.1 在 190~360 nm 测试岩白菜素对照品溶液的吸收光谱,岩白菜素在 215 nm 和 274 nm 均有吸收,选择 274 nm 作为检测波长,杂质对测定无干扰。

3.2 试验中选择了 Kromasil  $C_{18}$  (200 mm  $\times$  5.0 mm, 5  $\mu$ m)、Hypersil ODS (150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Sepucol  $C_{18}$  (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱;流动相采用甲醇-水、乙腈-水系统,均能分离矮地茶中岩白菜素,由于七神喉痹通颗粒中干扰成分较多,最后选择以 Kromasil  $C_{18}$  (200 mm  $\times$  5.0 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱,乙腈-水 (8:92) 为流动相。

### References:

- [1] Zheng L M, Qi X W, Xing M Y. Experimental study on the quality standard and formulation screening of Bergenin Tablets [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2002, 13(7): 398-399.
- [2] Yuan A Z. Determination of bergenin in Xifeinin Oral Solution by TLCs [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16(2): 16.
- [3] Pan Y, Wang T S, Ma G, et al. The assay of Bergenin Gandujing Granule by RP-HPLC [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1998, 9(3): 172-174.
- [4] Xiong Z Z. Determination of bergenin in Compound Bergenin Tablets by HPLC [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2002, 16(2): 11-13.
- [5] Sun H X, Ye Y P, Yang K. Studies on the chemical constituents in *Radix Astilbes Chinensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (10): 751-754.

## HPLC-ELSD 测定参芪降糖颗粒中人参皂苷 $Rg_1$ 和 $Re$ 的含量

王守箐

(临沂师范学院,山东 临沂 276000)

参芪降糖颗粒是由人参(茎叶)、黄芪等 11 味中药制得的复方制剂,具有益气养阴,滋脾补肾功效,主治消渴症,临床用于 I 型糖尿病。人参为方中君药,一般将其有效成分人参皂苷  $Re$ 、 $Rg_1$  作为制剂的质量指标。目前参芪降糖颗粒定量部分为薄层扫描法测定人参皂苷  $Re$  的含量<sup>[1]</sup>。本实验在参考文献<sup>[2,3]</sup>的基础上,采用 HPLC-ELSD 法同时测定人参皂苷  $Re$  和  $Rg_1$  的含量。结果表明,该法线性关系、回收率良好,重现性优于薄层扫描法,可用于该品种的质量控制。

### 1 仪器与试剂

Agilent1100 Series (美国 Agilent 公司), ELSD-2000 (Alltech 公司);人参皂苷  $Re$ 、 $Rg_1$  对照品(中国药品生物制品检定所);参芪降糖颗粒(鲁南制药股份有限公司);阴性样品(自制);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil  $C_{18}$  柱 (150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m;天津特纳公司);流动相:乙腈-水 (22:78, 甲酸调 pH 至 2.2);体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温;进样量:20  $\mu$ L。ELSD 参数:漂移管温度 110  $^{\circ}$ C;空气流量 3.0 L/min。

2.2 对照品溶液的制备:分别精密称取于 60 ℃ 减压干燥 4 h 的人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub> 对照品适量,以流动相溶解并稀释成 0.8 mg/mL 的溶液,作为对照品储备液。临用时,取两种储备液适量,置同一量瓶中,以流动相稀释成人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub> 质量浓度分别为 80、40 μg/mL 的溶液作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取本品适量,研细,精密称取细粉 1.5 g,置具塞锥形瓶中,加 80% 甲醇 50 mL,密塞,超声处理 40 min,放冷,滤过。精密取续滤液 10 mL,挥去甲醇,残液以 10 mL 水转移至分液漏斗中,以醋酸乙酯提取 3 次,每次 20 mL,弃去醋酸乙酯液,水液用水饱和的正丁醇提取 4 次(20、20、15、15 mL),合并正丁醇液,用氨试液提取 2 次,每次 30 mL,弃去氨液,正丁醇液挥干,残渣以流动相 10 mL 溶解,经微孔滤膜滤过,即得。同法制备阴性对照溶液。

2.4 干扰试验:分别取对照品溶液、阴性对照溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,在与对照品色谱图相应位置上,阴性对照溶液色谱图中无干扰峰(图 1)。

Rg<sub>1</sub> 峰面积的 RSD=0.3%,人参皂苷 Re 峰面积的 RSD=0.5%。取其中一份供试品溶液,制备后每隔 2 h 测定 1 次,结果人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 峰面积的 RSD=1.1%,人参皂苷 Re 峰面积的 RSD=1.4%,表明供试品溶液在室温下 12 h 内基本稳定。

2.8 回收率试验:精密称取颗粒(批号:031001,含人参皂苷 Re 为 3.10 mg/g,人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 为 1.42 mg/g)细粉 0.75 g,共 9 份,均分为 3 组,每组分别精密加入人参皂苷 Re 与 Rg<sub>1</sub> 对照品储备液 1.5、3.0、4.0 和 0.8、1.5、2.0 mg,照供试品溶液制备项下方法处理,进样测定,并计算回收率,结果人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和 Re 的平均回收度分别 98.5%、98.3%,RSD 分别为 0.7%、0.15% (n=9)。

2.9 样品测定:取样品 3 批,制备供试品溶液,分别取对照品溶液和供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,计算,并与 TLC 法测定结果比较,结果见表 1。

表 1 参芪降糖颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和 Re 的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination results of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and Re in Shenqi Jiangtang Granula (n=3)

批号	HPLC 法				TLC 法 <sup>[1]</sup>	
	人参皂苷 Rg <sub>1</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD /%	人参皂苷 Re/(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD /%	人参皂苷 Re/(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD /%
031001	1.39	1.8	3.04	1.9	3.04	4.3
031002	1.54	2.0	3.15	1.6	3.18	3.1
031003	1.47	1.7	3.01	1.5	2.98	3.3

3 讨论

3.1 检测方法的选择:人参皂苷 Rb、Rg<sub>1</sub> 为人参重要的活性成分,由茎叶获得的人参皂苷 Rb 含量很低,测定参芪降糖颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 的含量对控制制剂质量很有意义;由于人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 在紫外区均为低波长末端吸收,采用 ELSD 检测器有较大优势;故本实验采用 HPLC-ELSD 法测定人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 的含量。

3.2 样品处理方法考察:《中华人民共和国药典》2000 年版一部中人参叶项下采用乙醚去脂溶性杂质、大孔树脂纯化样品。由于本品为复方制剂,样品经大孔树脂纯化后仍不能排除杂质干扰,因此本实验采用醋酸乙酯除脂溶性杂质,正丁醇提取,氨试液洗涤杂质,试验表明人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 的回收率高,杂质不干扰指标成分测定。

3.3 流动相的选择:人参皂苷的测定,一般使用乙腈-0.05% 磷酸溶液(1:4)为流动相,但使用 ELSD

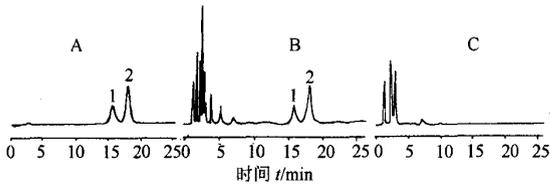


图 1 对照品(A)、参芪降糖颗粒(B)和缺人参的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Shenqi Jiangtang Granula (B), and negative sample without ginseng (C)

2.5 线性关系考察:精密取对照品储备液适量,用流动相制成含人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 质量浓度分别为 20、40、60、80、100、120 μg/mL 和 10、20、30、40、50、60 μg/mL 的溶液,分别取 20 μL 依次测定,以进样量 X(μg)对峰面积 Y 进行线性回归,得回归方程 Rg<sub>1</sub>: Y=35 467 X+79 832, r=0.998 7 和 Re: Y=573 462 X+4 532 796, r=0.999 0,表明人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 在 0.4~2.4 μg、人参皂苷 Re 在 0.2~1.2 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验:取混合对照溶液重复进样 5 次,结果人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 峰面积的 RSD=0.42%,人参皂苷 Re 峰面积的 RSD=0.26%。

2.7 重现性与稳定性试验:取批号为 031001 样品,平行制备 6 份供试品溶液,进样测定,结果人参皂苷

检测器时,由于磷酸沸点高、不易气化,加上与样品处理使用的氨试液残留部分形成盐,致使流动相基线吸收过大,降低了检测器的灵敏度,故本实验中使用甲酸代替磷酸。

3.4 流动相 pH 值对人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub> 分离度的影响:将乙腈、水按比例(22:78)混合,调其 pH 值,以不同 pH 值的流动相分离样品。结果表明:pH>2.1 时分离度即符合要求,而且分离度随 pH 增大而增大,但保留时间延长,峰形变宽,pH>2.3 保留时间已达 46 min,pH=2.6 时人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 峰已变

得十分平缓,难以积分。经试验,确定 pH 为 2.2。

#### References:

- [1] *Drug Specification Promulgated by Ministry of Public Health, P. R. China* (中华人民共和国卫生部药品标准) [S]. WS<sub>3</sub>-177 (X-167)-99(Z). 1999.
- [2] Huang Y Z, Wang N S. Determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Rb and Panax notoginsenoside R<sub>1</sub> in compound Danshen Dropping Pill by HPLC-ELSD [J]. *Tradit Chin Drug Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2002, 13(3): 174-176.
- [3] Chen X R, Yu J W. Determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and Re in Red Ginseng and Yujing Capsula by HPLC-ELSD [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(8): 544-546.

## HPLC 法测定复方益肾颗粒中淫羊藿苷的含量

张林松

(镇江市药品检验所,江苏 镇江 212003)

复方益肾颗粒为临床验方,由淫羊藿、女贞子、菟丝子、肉苁蓉等药物组成,具有补肾强身的功效。用于腰酸足软、头晕耳鸣、阳痿遗精等症。其中淫羊藿为方中主药,而淫羊藿苷则又是淫羊藿的主要有效成分,因此本实验采用 HPLC 法测定淫羊藿苷的含量,为控制本制剂质量提供了可靠的实验依据。

### 1 仪器与试剂

LC—10A 高效液相色谱仪(日本岛津公司),SPD—10A 检测器,KQ—500E 型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号:0737-9910);复方益肾颗粒(自制)。乙腈、甲醇为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱 YWG C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 10 μm);流动相为乙腈-水(30:70);体积流量为 1.0 mL/min;检测波长为 270 nm;柱温为 25℃;进样量为 10 μL。理论塔板数按淫羊藿苷计算不得低于 2500。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取淫羊藿苷对照品 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品,研细,称取 1.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇溶液 25 mL,称定质量,超声提取 1 h,放冷,擦干瓶外壁,

再称定质量,加稀乙醇溶液补足减少的质量,摇匀,滤过,取续滤液作供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备:按处方组成,剔除淫羊藿,按复方益肾颗粒的制备工艺,制成不含淫羊藿的阴性样品,按 2.3 项下方法,制成缺淫羊藿的阴性对照溶液。

2.5 线性关系考察:精密吸取上述淫羊藿苷对照品溶液 2、4、6、8、10 μL,在上述色谱条件下测定峰面积值。以峰面积平均值对进样量进行回归处理,得回归方程:Y=1 962 960.25 X-30 453.55, r=0.999 7,线性范围为 0.2~1.0 μg。

2.6 精密度试验:取 0.6 mg/mL 淫羊藿对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,测定,结果其峰面积 RSD 为 1.34%。

2.7 重现性试验:取同一批供试品溶液(批号 I)进行 5 次平行试验,测定淫羊藿苷的质量分数,结果其 RSD 为 2.12%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液(批号 I),每隔 2 h 进样 10 μL,测定淫羊藿苷峰面积值,共测定 5 次,结果其 RSD 为 2.01%。表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.9 加样回收率试验:取批号为 I 的复方益肾颗粒适量,研细,称取约 0.7 g 精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入淫羊藿苷对照品稀乙醇溶液(0.031 12 mg/mL) 25 mL,按 2.3 项下方法处理,计算加样