

高效液相色谱梯度洗脱法测定调经养颜颗粒中人参皂苷 Rg1 的含量

★ 陈梅荣* 王晖 袁海铭 刘良玉 (江西省药物研究所 南昌 330029)

摘要:目的:建立反相高效液相色谱梯度洗脱法测定调经养颜颗粒中人参皂苷 Rg1 的含量。方法:色谱柱为 Alltima C₁₈ (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 200 mm),流动相为乙腈-水梯度洗脱:乙腈 0~25 分钟,15% $\rightarrow$ 30%;25~31 分钟,15%;水 0~25 分钟,85% $\rightarrow$ 70%;25~31 分钟,85%;流速为 1.0 ml/min,检测波长为 203 nm,柱温为 35 $^{\circ}$ C。结果:人参皂苷 Rg1 进样量在 1.6080~9.6482 μ g ($r=0.9998$) 的范围内线性关系良好,平均回收率为 101.88%, $RSD=1.95\%$ 。结论:该方法简便、准确、重现性好,可用于调经养颜颗粒的质量控制。

关键词:反相高效液相色谱;梯度洗脱法;调经养颜颗粒;人参皂苷 Rg1

中图分类号:R 927 **文献标识码:**B

调经养颜颗粒由地板藤、黄芪、女贞子、小红参、三七、玉带草六味中药组成,功能补血益气,调经养颜,用于妇女月经不调及其引起的痛经、面色淡暗或

有暗斑。本品疗效显著,且毒副作用甚微,故临床应用较为广泛。三七为本品中主药之一,且为贵重药材,因此,笔者采用高效液相色谱梯度洗脱法测定本

大鼠和小鼠移植性肿瘤生长均有较好的抑制作用,其抗肿瘤有效成分为生物碱,实验表明白叶瓜馥木纯生物碱抗肿瘤的细胞毒作用不明显,提示其可能是提高免疫力而起到抗肿瘤作用^[4]。瓜馥木总碱对离体豚鼠心脏有负性肌力和频率作用,能增加冠脉流量和对抗垂体后叶素引起冠收缩的作用,能拮抗不同浓度 Ca^{2+} 引起的离体大鼠心房的正性频率作用,减少自发性收缩频率,使异丙肾上腺素反应曲线右移,总碱能松弛气管和小肠平滑肌,对小鼠心肌 cAMP 水平无明显影响,对小鼠血浆和豚鼠血浆、肝、脾组织 cAMP 水平升高^[9]。瓜馥木总生物碱有镇痛作用,其酸性部分具有抗关节炎作用^[7]。台湾学者从白叶瓜馥木中分离出的生物碱经药理学验证证明其具有抗病毒活性^[3]。

3 瓜馥木属药用植物资源的开发

广西瓜馥木资源十分丰富,大多具有祛风通络、活血止血的功效,主要用于治疗风湿痹痛、类风湿性关节炎、外伤出血、跌打损伤等。目前对瓜馥木属的药效学研究还未引起足够的重视,应该加强对瓜馥木属的化学和药理方面的研究,重点开发抗风湿和

心血管方面的新药,让瓜馥木属药用植物为人类的健康和提高生活质量发挥作用。

参考文献

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 第三十卷第二分册. 北京:科学出版社,1979:130.
- [2] 广西科学院广西植物研究所. 广西植物志[M]. 南宁:广西科学出版社,1991:140-151.
- [3] Lu ST. Alkaloids of Formosan and goniotala Species[J]. Phytochemistry,1985,24:1 829.
- [4] Wu Yang Chang. A novel cytotoxic oxoporphine alkaloid from fissistigma glaucescens[J]. Heterocycles,1987,26(1):9.
- [5] Wu Yang Chang. Two phenanthrene alkaloids from Fissistigma glaucescens[J]. Phytochemistry,1990,29(7):2 387.
- [6] 徐昌瑞. 瓜馥木化学成分研究[J]. 中草药,1983,14(4):4-6.
- [7] 李琰. 瓜馥木属植物化学成分研究概况[J]. 国外医药·植物药分册,1999,14(3):115-117.
- [8] 廖永红. 黑风藤的化学成分[J]. 药学报,1999,34(3):207-209.
- [9] 陈奇. 瓜馥木对环核苷酸的影响及对离体心脏的作用[J]. 中国药理学报,1985,6(1):48-51.
- [10] 傅立国,陈谭清,郎永楷,等. 中国高等植物(第三卷)[M]. 青岛:青岛出版社,2002:34.

(收稿日期:2009-09-07 责任编辑:曾文雪)

* 作者简介:陈梅荣(1970~),女,副研究员,学士学位,主要从事新药开发和质量标准研究工作。电话:0791-8102554,E-mail:w_hcmr@sina.com。

品中三七所含有效成分人参皂苷 Rg1 的含量,以控制成品质量。

1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪(包括 SCL-10A VP 控制器、LC-10AT VP 泵、SPD-10A VP 检测器、SIL-10AD VP 自动进样器、DGU-14A 脱气机、CTO-10AS VP 柱温箱、CLASS-VP 工作站);KQ-250 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Mettler M3 电子天平(梅特勒公司);TG328A 分析天平(上海天平仪器厂)。

人参皂苷 Rg1 对照品(供含量测定用),购于中国药品生物制品检定所,批号:110703-200322;调经养颜颗粒,自制;乙腈为色谱纯,水为重蒸水,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:Alltima C18 (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相:以乙腈为流动相 A,以水为流动相 B,进行梯度洗脱:A:0~25 分钟,15% $\rightarrow$ 30%;25~31 分钟,15%;B:0~25 分钟,85% $\rightarrow$ 70%;25~31 分钟,85%;流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ l。

2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取约 4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 ml,称定重量,超声处理(功率 250W,频率 40k Hz)30 分钟,取出,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 ml,蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,移至分液漏斗中,用水饱和正丁醇振摇提取 3 次(20、20、15 ml),合并正丁醇液,用正丁醇饱和的氨试液洗涤 2 次(20、15 ml),弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解,转移至 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 标准曲线的绘制 取人参皂苷 Rg1 对照品约 40 mg,精密称定,置 25 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,从中分别精密吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml 置 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,从中分别精密吸取 10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图,以峰面积 A 对进样量 C(μ g)进行线性回归,得回归方程为: $A = 40\,945 + 256\,023C$, $r = 0.999\,8$ 。结果表明人参皂苷 Rg1 进样量在 1.608 0 μ g~9.648 2 μ g 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取人参皂苷 Rg1 对照品溶液 10 μ l,重复进样 6 次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.48%。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液,分别于制备后 0、2、4、6、8、10 小时测定,记录峰面积,结果 RSD 为 0.52%,表明样品溶液在 10 小时内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批号样品 6 份,精密称定,依法平行测定,结果人参皂苷 Rg1 平均含量为 2.565 mg/g, RSD 为 1.03%。

2.7 加样回收试验 取已知含量的样品 6 份,精密称定,分别精密加入人参皂苷 Rg1 对照品适量,依法测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
2.0039	5.140	5.163	10.300	99.94		
2.0051	5.143	5.124	10.471	103.98		
2.0049	5.182	5.149	103228	99.53	101.88	1.952.0043
2.0065	5.147	5.215	10.553	103.66		
2.0108	5.158	5.194	10.398	100.89		

2.8 阴性干扰试验 取阴性对照样品按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图。结果在选定的色谱条件下,供试品中人参皂苷 Rg1 峰与其他组分色谱峰能达到基线分离,阴性对照对测定无干扰。

2.9 样品测定 取样品 3 批,依法测定含量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果($n=3$)

批号	人参皂苷 Rg1 含量/mg $\cdot$ g $^{-1}$	RSD/%
20050301	8.626	0.93
20050302	8.705	1.16
20050303	8.563	1.09

3 讨论

样品前处理分别对不同超声处理时间及萃取次数进行了比较,结果表明超声处理 30 min,萃取 3 次即可基本提取完全。

本品所含成分较复杂,对分离有一定影响,经多次试验,结果表明采用梯度洗脱法能使人参皂苷 Rg1 达到基线分离,且其他成分对测定无干扰。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典 2005 年版一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] 王超凡, 吴新辉. HPLC 法测定三七片中人参皂苷 Rg1 的含量[J]. 中国南药学, 2004, 6(3): 159-160.
- [3] 宋茹, 袁继民, 刘欣. 高效液相色谱法测定三七药材中人参皂苷 Rg1 和三七皂苷 R1 的含量[J]. 中国现代应用药学, 2005, 21(1): 69-71.

(收稿日期: 2009-10-21 责任编辑: 周茂福)