

UPLC测定参麦注射液中人参皂苷 R_{g₁}、 人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 的含量

林苏娜¹, 余楚钦¹, 林华庆^{1*}, 郭玉海², 林的仕¹, 郑文忠¹, 黄晓敏¹
(1. 广东药学院 药物研究所, 广州 510006; 2. 广东省中医院, 广州 510006)

[摘要] 目的:采用超高效液相色谱法分离测定参麦注射液中人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 的含量。方法:采用 ACQUITY® UPLC HSS T3 (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸(B), 梯度洗脱(0~5 min, 19% A; 5~12 min, 19%~28% A; 12~18 min, 28%~40% A), 流速 0.3 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm, 柱温 25 °C。结果:人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 分别在 0.020 96~0.209 6, 0.017 64~0.176 4, 0.023 88~0.238 8 g·L⁻¹ 与相应峰面积呈良好线性关系, 平均加样回收率(n=6) 分别为 100.12%, 100.08%, 99.51%, RSD 分别为 1.60%, 2.03%, 1.15%。结论:与 HPLC 相比, UPLC 在不影响分离效果的情况下可显著提高参麦注射液中人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 的分析速度, 改善分析效果, 同时可减少溶剂的消耗。该方法简便、快捷、准确、重复性好, 可代替 HPLC 法用于参麦注射液的多指标质量控制。

[关键词] 超高效液相色谱法; 参麦注射液; 人参皂苷 R_{g₁}; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0048-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014080048

Content Determination of Ginsenoside R_{g₁}, Ginsenoside Re and Ginsenoside Rb₁ in Shenmai Injection by UPLC

LIN Su-na¹, YU Chu-qin¹, LIN Hua-qing^{1*}, GUO Yu-hai², LIN Di-shi¹,
ZHENG Wen-zhong¹, HUANG Xiao-min¹

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Institute of Materia Medica, Guangzhou 510006, China;
2. Guangdong Provincial Chinese Medicine Hospital, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method to determine the content of ginsenoside R_{g₁}, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ in Shenmai injection by ultra performance liquid chromatography (UPLC). **Method:** ACQUITY® UPLC HSS T3 column (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm) was used with mobile phase consisted of acetonitrile (A) -0.05% phosphoric acid solution (B) by gradient elution (0-5 min, 19% A; 5-12 min, 19%~28% A; 12-18 min, 28%~40% A) at a flow rate of 0.3 mL·min⁻¹; the wavelength of detector was 203 nm. **Result:** Ginsenoside R_{g₁}, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ had good linearity within the range of 0.020 96-0.209 6, 0.017 64-0.176 4, 0.023 88-0.238 8 g·L⁻¹ respectively. The average recoveries (n=6) were 100.12%, 100.08%, 99.51% and RSDs were 1.60%, 2.03%, 1.15% respectively. **Conclusion:** UPLC method may greatly improve the separation efficiency and analysis speed in the case of ginsenoside R_{g₁}, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ in Shenmai injection while reducing the solvent consumption. As an alternative of conventional HPLC, UPLC is more convenient, rapid, accurate and excellent repeatability.

[Key words] UPLC; shenmai injection; ginsenoside R_{g₁}; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁

[收稿日期] 20130729(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81271625)

[第一作者] 林苏娜, 从事药剂学研究, Tel:020-39352512, E-mail:lsn15806033660@163.com

[通讯作者] * 林华庆, 教授, 从事药物新剂型研究, Tel:13902243112, E-mail:huaqing_@vip.tom.com

参麦注射液是由红参和麦冬提取精制而成,收载于卫生部部颁标准(WS3-B-3428-98-2010Z),具有益气固脱养阴生津等功能,用于冠心病休克病毒性心肌炎的治疗,为临床常用中药注射液品种之一。目前标准采用的是比色法测定总皂苷^[1],专属性不强且操作复杂,准确度不高。《中国药典》采用HPLC测定红参中人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁,分析时间需要 100 min 左右^[2]。本文建立一种分析时间较短的方法,为参麦注射液质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

Waters Acquity UPLC system,包括四元泵处理器、样品处理器、柱温箱、PDA 检测器及 Empower 色谱工作站。

人参皂苷 R_{g1} 对照品(批号 121210,购于广州齐云生物科技有限公司)、人参皂苷 Re 对照品(批号 110754-201123,购于中国药品生物制品检定所)、人参皂苷 Rb₁ 对照品(批号 110704-201223,购于中国药品生物制品检定所),乙腈(MERCK, HPLC 级),水(屈臣氏蒸馏水),磷酸(HPLC 级)。参麦注射液(批号 1207101,四川升和药业股份有限公司)。

2 方法

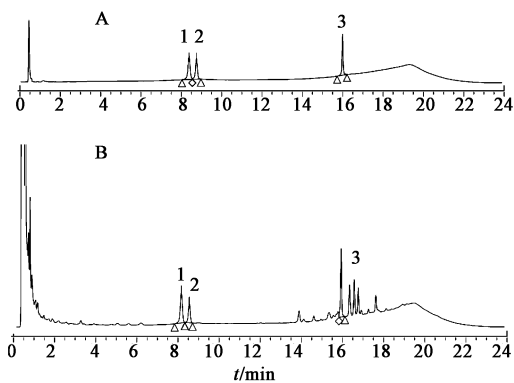
2.1 对照品溶液的制备 混合对照溶液:精密称取对照品人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 适量,加甲醇制成每 1 mL 分别含人参皂苷 R_{g1} 1.048 mg、人参皂苷 Re 0.882 mg、人参皂苷 Rb₁ 1.194 mg 的混合对照品溶液。

单独对照溶液:分别精密称取对照品人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 适量,加甲醇制成每 1 mL 分别含人参皂苷 R_{g1} 1.007 mg、人参皂苷 Re 0.862 mg、人参皂苷 Rb₁ 1.017 mg。

2.2 供试品溶液的制备 取本品,经 0.22 μm 滤膜过滤后,直接进样测定。

2.3 色谱条件 ACQUITY® UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm),柱温 25 °C,以乙腈为流动相 A,0.05% 磷酸溶液为流动相 B,梯度洗脱(0~5 min,19% A;5~12 min,19%~28% A;12~18 min,28%~40% A;流速 0.3 mL·min⁻¹,检测波长 203 nm;进样量 2 μL。在此条件下,人参皂苷 R_{g1} 与人参皂苷 Re 分离度为 2.18,理论塔板数分别为 30 699,41 022,385 794,见图 1。

2.4 线性及范围 精密量取混合对照溶液 0.2, 0.4, 1, 1.6, 2 mL 于 10 mL 量瓶中,分别制成 5 个不



1. 人参皂苷 R_{g1}; 2. 人参皂苷 Re; 3. 人参皂苷 Rb₁

图 1 混合对照品(A)和样品(B)UPLC 色谱图

同浓度的混合对照品溶液,进样测定,以进样量 X 为横坐标,峰面积值 Y 为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程,结果见表 1。3 种人参皂苷在各自的线性范围内线性关系良好。

表 1 3 种人参皂苷对照品的回归方程

对照品	回归方程	r	线性范围/μg
人参皂苷 R _{g1}	$Y = 972.191X - 1451.1$	0.999 2	0.041 92 ~ 0.419 2
人参皂苷 Re	$Y = 929.473X - 747.81$	0.999 0	0.035 28 ~ 0.352 8
人参皂苷 Rb ₁	$Y = 694.831X + 16.423$	0.999 3	0.047 76 ~ 0.477 6

2.5 精密度和重复性 取同一份供试品溶液(批号 1207101),连续进样 6 次,各人参皂苷峰面积的 RSD 分别为 0.25%, 0.72%, 0.81%, 其 RSD 均 < 2%。取同一批供试品(批号 1207101),制备 6 份供试品溶液,进样测定,各人参皂苷峰面积的 RSD 分别为 1.67%, 1.81%, 0.62%, 其 RSD 均 < 2%。说明该方法的精密度和重复性良好。

2.6 稳定性 取同一供试品溶液,分别于制备后的 0, 2, 4, 6, 8, 10 和 12 h 进样,记录峰面积,结果 3 个色谱峰峰面积的 RSD 分别为 0.57%, 0.91%, 1.55%, 表明室温下供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 回收率试验 精密量取已知含量的供试品溶液(批号 1207101)4 mL,于 10 mL 量瓶中,精密加入 2.1 项下单独对照品溶液,其中人参皂苷 R_{g1} 0.5 mL、人参皂苷 Re 0.4 mL、人参皂苷 Rb₁ 0.8 mL,摇匀平行制备 6 份供试品溶液,进样测定结果见表 2。

2.8 样品测定 取同一份供试品测定 3 次,取峰面积平均值代入标准曲线计算得每 1 mL 参麦注射液中含分别含人参皂苷 R_{g1} 0.138 1 mg、人参皂苷 Re 0.084 98 mg、人参皂苷 Rb₁ 0.212 7 mg。

3 小结与讨论

实验表明,升高柱温不利于人参皂苷的分离,且

表 2 参麦注射液中 3 种人参皂苷加样回收率试验

成分	样品含量/g·L ⁻¹	加入量/g·L ⁻¹	测得量/g·L ⁻¹	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
人参皂苷 R _{g₁}	0.0552 4	0.0503 5	0.1047 9	98.41	100.12	1.60
	0.0552 4	0.0503 5	0.1053 6	99.54		
	0.0552 4	0.0503 5	0.1069 4	102.68		
	0.0552 4	0.0503 5	0.1058 3	100.48		
	0.0552 4	0.0503 5	0.1049 1	98.65		
	0.0552 4	0.0503 5	0.1060 7	100.95		
人参皂苷 R _e	0.0335 9	0.0344 8	0.0690 2	102.75	100.08	2.03
	0.0335 9	0.0344 8	0.0687 1	101.85		
	0.0335 9	0.0344 8	0.0679 4	99.62		
	0.0335 9	0.0344 8	0.06823	100.46		
	0.0335 9	0.0344 8	0.0674 8	98.29		
	0.0335 9	0.0344 8	0.0672 0	97.48		
人参皂苷 R _{b₁}	0.0850 9	0.0813 6	0.165 7	99.08	99.51	1.15
	0.0850 9	0.0813 6	0.166 9	100.55		
	0.0850 9	0.0813 6	0.164 8	97.97		
	0.0850 9	0.0813 6	0.165 3	98.59		
	0.0850 9	0.0813 6	0.167 1	100.80		
	0.0850 9	0.0813 6	0.166 5	100.06		

柱温 > 30 ℃ 时, 人参皂苷 R_{g₁} 与 人参皂苷 R_e 不能完全分离。当柱温为 25 ℃ 时, 人参皂苷 R_{g₁} 与 人参皂苷 R_e 分离得比 30 ℃ 好。因此柱温选择 25 ℃。

采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 不能将 人参皂苷 R_{g₁} 与 人参皂苷 R_e 完全分离, 而采用 ACQUITY UPLC HSS T3 能使得这两种皂苷的分离度 > 2, 这是因为 ACQUITY UPLC HSS T3 柱对 人参皂苷 R_{g₁} 和 人参皂苷 R_e 有更好的保留。

目前有 UPLC 法测定三七皂苷^[9], 但实验未同时测定 人参皂苷 R_{g₁} 和 人参皂苷 R_e, 也有 UPLC-MS 测定血浆中的人参皂苷等报道, 文献中在流动相加入了盐^[10], 这容易减短超高效色谱柱的寿命。本实验流动相采用磷酸并且使用预柱, 使用多次后柱压依然不会明显升高, 说明装上预柱, 超高效色谱柱的寿命也并不短。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂. 第 18 册[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, WS3-B-3428-98-2010Z:167.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:143.

[3] 曹树萍, 聂黎行, 王钢力, 等. HPLC 法同时测定参麦注射液中 9 个人参皂苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3):476.
[4] 张继东. 参麦注射液含量测定方法的改进[J]. 中医学报, 2011, 26(2):196.
[5] 赵爱桔, 沈培强, 祁大庆, 等. 参麦注射液 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 齐鲁药事, 2010, 29(9):525.
[6] 王勤, 祝德秋, 王琰. 参麦注射液的制备及指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2006, 17(18):1436.
[7] 李伟. 高效液相色谱法测定参麦注射液中 人参皂苷 R_{g₁} 和 人参皂苷 R_e 的含量[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(5):150.
[8] 王京霞, 陈琳, 乔晴, 等. 参血胶囊中 人参皂苷 R_{b₁}、R_e、R_{g₁} 含量的测定[J]. 浙江中医药大学学报, 2011, 35(1):82.
[9] 谢耀轩, 林亚珠. 超高效液相色谱法测定三七中 人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 R_{b₁} 和三七皂苷 R₁ 的含量[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(5):489.
[10] Deng G F, Wang D L, Meng M X, et al. Simultaneous determination of notoginsenoside R₁, ginsenoside R_{g₁}, R_e, R_{b₁} and icariin in rat plasma by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatography B, 2009, 877:2113.

[责任编辑 顾雪竹]