

HPLC 测定人参固本胶囊中人参皂苷 Rg₁, Re 的含量

马慧萍¹, 舒晓玲², 董志臣¹, 李兰茹¹, 何蕾¹, 贾正平^{1*}

(1. 兰州军区兰州总医院药剂科/全军高原环境损伤防治重点实验室, 兰州 730050;
2. 兰州平板玻璃厂职工医院, 兰州 730060)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱(HPLC)测定人参固本胶囊中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量测定方法。方法: Hypersil ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸(19.3:80.7), 检测波长 203 nm, 柱温室温, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果:人参皂苷 Rg₁ 在 0.216 ~ 5.400 μg 呈良好的线性关系($r = 0.9994$), 平均回收率 98.53% (RSD 1.10%), 人参皂苷 Re 在 0.212 ~ 5.300 μg 呈良好的线性关系($r = 0.9998$), 平均回收率 98.36% (RSD 1.35%)。结论:方法简便快速、专属性强、准确度高,可用于人参固本胶囊的质量控制。

[关键词] 人参固本胶囊; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)18-0158-03

[doi] 10.11653/syjf2013180158

Determination of Ginsenoside Rg₁ and Ginsenoside Re in Renshen Guben Capsules by HPLC

MA Hui-ping¹, SHU Xiaoling², DONG Zhi-cheng¹, LI Lan-ru¹, HE Lei¹, JIA Zheng-ping^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Military Command; Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, PLA, Lanzhou 730050, China;
2. Staff-worker Hospital, Lanzhou Flat Plate Glass Factory, Lanzhou 730060, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC method for the content determination of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re in Renshen Guben Capsules. **Method:** A Hypersil ODS2 C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used and acetonitrile-0.05% phosphoric acid (19.3:80.7) as the mobile phase. The detection wavelength was set at 203 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The calibration curves of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re were linear in the range of 0.216-5.400 μg ($r = 0.9994$) and 0.212-5.300 μg ($r = 0.9998$) respectively. The average recoveries were 98.53% (RSD 1.10%) for ginsenoside Rg₁ and 98.36% (RSD 1.35%) for ginsenoside Re. **Conclusion:** The established method is simple, rapid, specific and accurate; it can be used as quality control of Renshen Guben Capsules.

[Key words] Renshen Guben Capsules; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Re; HPLC; determination

人参固本胶囊是我院新研制的纯中药医院制剂,由人参、黄芪、枸杞子等 8 味药材提取加工而成,

具有补肺健脾、填精益神、益气固本、助阳护卫的功效,适用于卫阳不固、气虚精亏所致的精力欠佳、头昏健忘、食减纳差等症。方中人参为君药,其主要活性成分为皂苷类如人参皂苷 Rg, Re 和 Rb 等,具有广泛的药理作用^[1-3]。为了有效控制该制剂的质量,保证临床用药安全有效,本实验采用 HPLC 同时测定人参皂苷 Rg₁ 和 Re 的含量。

1 材料

Waters 高效液相色谱仪(包括 510 型泵,481 型

[收稿日期] 20121029(016)

[第一作者] 马慧萍, 博士, 副主任药师, 从事药物分析和新药研究, Tel: 0931-8994671, E-mail: mahui pingcxr@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 贾正平, 教授, 博士生导师, 主任药师, 从事临床药学和新药研究, Tel: 0937-8994652, E-mail: mahui pingcxr@yahoo.com.cn

紫外检测器,7725i 型进样器,N3000 色谱工作站),SK3300LH 型超声清洗机(上海科导超声仪器有限公司),AE200 型电子天平(上海梅特勒-托利多公司)。

人参皂苷 R_{g_1} 对照品(购自中国药品生物制品研究所,供含量测定用,批号 110703-201027),人参皂苷 Re 对照品(购自中国药品生物制品研究所,供含量测定用,批号 110754-201123),人参固本胶囊(兰州军区兰州总医院,规格 0.5 g/粒,批号 20110101,20110102,20110103),乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

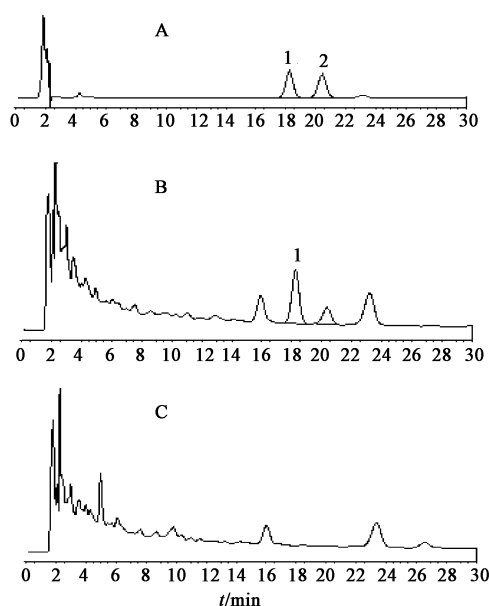
2.1 供试品溶液的制备 取胶囊内容物细粉约 3 g,精密称定,置索氏提取器中,加三氯甲烷适量,加热回流 2 h,弃去三氯甲烷液,药渣挥干溶剂,再加甲醇适量加热回流 2 h,甲醇液置水浴上蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,置分液漏斗中,以水饱和的正丁醇振摇提取 5 次(20,20,15,15,10 mL),合并提取液,用氨试液洗涤 3 次,每次 30 mL,弃去氨试液,以正丁醇饱和的水洗涤 3 次,每次 20 mL,弃去水液。正丁醇液置水浴上蒸干。残渣加甲醇适量使溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称定人参皂苷 R_{g_1} 对照品 0.010 8 g,置 10 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,为对照品溶液 A;取人参皂苷 Re 对照品 0.010 6 g,置 10 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,为对照品溶液 B;精密量取对照品溶液 A 和 B 各 1 mL,置 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 阴性样品溶液的制备 取除人参外的其他处方药材,制成缺人参的阴性样品,按上述供试品溶液制备方法制成缺人参的阴性样品溶液。

2.4 色谱条件及专属性实验 Hypersil ODS2 C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm,5 μm),流动相乙腈-0.05% 磷酸(19.3:80.7),检测波长 203 nm,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,进样量 20 μL ,柱温室温。在此条件下绘制样品、对照品和样品液相色谱图。结果人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 色谱峰均可达基线分离,分离度为 1.88,其理论塔板数分别为 13 720,12 934。供试品色谱图中,检出与对照品保留时间相同的色谱峰,而缺人参的阴性样品在此保留时间无色谱峰,说明阴性样品无干扰。结果见图 1。

2.5 标准曲线与线性范围 精密吸取对照品溶液



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 人参皂苷 R_{g_1} ;2. 人参皂苷 Re

图 1 人参固本胶囊 HPLC

(含人参皂苷 R_{g_1} 0.216 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和人参皂苷 Re 0.212 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)1,5,10,15,20,25 μL 注入液相色谱仪。按上述色谱条件,测定峰面积,以峰面积为纵坐标,以人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 的含量为横坐标,分别绘制标准曲线。其回归方程为 $A_{\text{人参皂苷 } R_{g_1}} = 286\ 916C - 66\ 089$ ($r = 0.999\ 4$),表明人参皂苷 R_{g_1} 在 0.216 ~ 5.400 μg 线性关系良好。 $A_{\text{人参皂苷 Re}} = 2809\ 62C - 61\ 687$ ($r = 0.999\ 8$),表明人参皂苷 Re 在 0.212 ~ 5.300 μg 线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取同一份人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 对照品混合溶液 20 μL ,重复进样 5 次,依法测定,结果人参皂苷 R_{g_1} 的峰面积积分值的 RSD 1.15%,人参皂苷 Re 的峰面积积分值的 RSD 0.86%,精密度较好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温放置,分别在 0,1,2,4,6,8 h 进样 20 μL ,测定峰面积,人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 的峰面积积分值的 RSD 分别为 1.52%,1.45%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批号(批号 20110101)样品,按含量测定方法项下的方法制备 6 份供试品溶液,照高效液相色谱法,按外标法计算人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 Re 的总量,平均含量为 0.367 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 2.33%,表明方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验 称取已知含量的样品(含人参皂苷 R_{g_1} 0.269 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和人参皂苷 Re 0.092 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)6 份,每份约 1.50 g,精密称定,分别定量精

密加入人参皂苷 Rg₁ 对照品(质量浓度 0.404 g·L⁻¹)和人参皂苷 Re 对照品,按样品制备方法制得

加样回收试验的供试品溶液,进样 20 μL,依法测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 加样回收率试验

成分	取样量/g	样品量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
人参皂苷 Rg ₁	1.500 8	0.403 7	0.202	0.605 6	99.95	98.53	1.10
	1.501 2	0.403 8	0.202	0.599 6	96.93		
	1.503 4	0.404 4	0.404	0.804 9	99.13		
	1.502 4	0.404 1	0.404	0.804 3	99.06		
	1.501 5	0.403 9	0.606	0.996 4	97.77		
	1.504 6	0.404 7	0.606	1.000 5	98.32		
人参皂苷 Re	1.500 8	0.138 1	0.068	0.203 6	96.32	98.36	1.35
	1.501 2	0.138 1	0.068	0.205 5	99.12		
	1.503 4	0.138 3	0.136	0.271 8	98.16		
	1.502 4	0.138 2	0.136	0.270 9	97.57		
	1.501 5	0.138 1	0.204	0.339 7	98.82		
	1.504 6	0.138 4	0.204	0.342 7	100.15		

2.10 样品测定 取不同批号装量差异项下的样品,研细,取样品细粉约 3 g,精密称定,按 2.3 项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液,按外标法计算样品中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量,结果见表 2。

表 2 人参固本胶囊中人参皂苷 Rg₁、
人参皂苷 Re 含量测定(n=3) mg/粒

批号	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷总量
110101	0.141	0.046	0.187
110102	0.129	0.045	0.174
110103	0.131	0.044	0.175

3 讨论

3.1 测定波长的选择 采用紫外分光光度计,在 190~800 nm 对人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的光谱图进行扫描,结果在 203 nm 处有最大吸收峰,故选择 203 nm 作为检测波长。

3.2 提取方法的选择 本方药味较多,成分复杂,干扰较大,除去杂质的影响较为关键。曾以《中国药典》2010 年版一部人参^[4]含量测定项下和多种文献报道^[5-7]的方法制备供试品溶液,经过反复实验比较确定采用正文所用方法提取效果好,不仅除去了杂质,还使有效成分人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 得到充分富集,信噪比增大。

3.3 流动相的选择 首先依据《中国药典》2010 年版一部人参含量测定项下所用流动相即乙腈-水的梯度洗脱方法,但耗时长,分离效果不好,且重复性差,后依次采用文献报道的乙腈-0.1% 磷酸(20:80)^[8]、乙腈-0.05% 磷酸溶液(96:400)^[9]、乙腈-0.05% 磷酸溶液(99:410)^[9]为流动相,通过分离

情况的比较和调整流动相的比例,结果发现以乙腈-0.05% 磷酸溶液(98:410)作为流动相,对样品的分离较好,保留时间大大缩短(18~20 min),且能达到良好的基线分离,阴性无干扰。

本实验所确定的定量方法,经过对多批样品进行反复测定,结果表明操作简便,准确好,灵敏度高,能够有效控制该制剂的质量。

[参考文献]

- [1] 何道同,王兵,陈璐明. 人参皂苷药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2012,14(7):118.
- [2] 石楸鸣. 人参皂苷的药理作用研究进展[J]. 中国药房,2010,21(31):2967.
- [3] 王宝福,谢席胜,冯胜刚. 人参皂苷 Rg₁ 对肾脏的保护作用及其机制研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2010,11(7):650.
- [4] 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,2010:8.
- [5] 娄玉霞,李向阳,李振国. HPLC 法测定生血复元口服液中含人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):51.
- [6] 莫炫永. HPLC 测定参松养心胶囊中人参皂苷 Rb₁ 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):112.
- [7] 王晓燕,朱宝珠. HPLC 测定脑脉舒康胶囊中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):56.
- [8] 欧阳庆. HPLC 法测定参雄温阳胶囊中人参皂苷 Rg₁、Re 的含量[J]. 中国药师,2010,13(2):215.
- [9] 徐晶,吕佳,王沛. HPLC 同时测定复方降糖口服液中含人参皂苷 Re、Rg₁ 的含量[J]. 中成药,2004,26(2):106.

[责任编辑 顾雪竹]