

HPLC 测定不同厂家参麦注射液中人参皂苷 R_{g_1} 和 Re 的含量

马静, 李学林*, 唐进法, 孟祥乐

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 建立用高效液相色谱法同时测定不同厂家参麦注射液中人参皂苷 R_{g_1} 和 Re 的含量。方法: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(19:81), 检测波长 203 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。结果: 人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 分别进样量在 0.086 ~ 4.296 μg ($r=0.9999$), 0.050 ~ 2.480 μg ($r=0.9998$) 与峰面积呈良好的线性关系; 人参皂苷 R_{g_1} 回收率为 99.7% (RSD 1.11%), 人参皂苷 Re 回收率为 100.0% (RSD 1.32%)。结论: 该方法简便、快速、准确、灵敏度高, 可用于参麦注射液的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱; 参麦注射液; 人参皂苷 R_{g_1} ; 人参皂苷 Re

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0079-03

[doi] 10.11653/syfy2013110079

Determination of Ginsenoside R_{g_1} and Re in Shenmai Injection of Different Manufacturers by HPLC

MA Jing, LI Xue-lin*, TANG Jin-fa, MENG Xiang-le

(First Affiliated Hospital of Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of ginsenoside R_{g_1} and Re in Shenmai injection of different manufacturers. **Method:** Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water (19:81) as the mobile phase and the detection wavelength was set at 220 nm; the flow rate was 1 mL·min⁻¹ and injection volume was 20 μL. **Result:** The calibration curves were linear in the range of 0.086-4.296 μg ($r=0.9999$) for ginsenoside R_{g_1} , 0.050-2.480 μg ($r=0.9998$) for ginsenoside Re. The average recovery of ginsenoside R_{g_1} was 99.7% (RSD 1.11%), ginsenoside Re was 100.0% (RSD 1.32%). **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and sensitive, which can be used for the determination of Shenmai injection.

[Key words] HPLC; Shenmai injection; ginsenoside R_{g_1} ; ginsenoside Re

参麦注射液是以人参、麦冬为原料,经现代工艺提取有效成分制成的中药注射液,具有益气、养阴、生津、复脉等功效^[1],治疗气虚证、阴虚证及气阴两

虚证疗效确切安全^[2]。临床上多用于治疗气阴两虚型之休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺心病、粒细胞减少症^[3],并且能够有效地治疗心衰^[4]、改善心肌梗死患者血液流变学而降低病死率^[5],近年来已经成为全国中医院急诊必备中成药之一^[6]。目前参麦注射液的生产厂家众多,质量极其不稳定,临床应用中出现了不少问题,因此有必要开展参麦注射液上市后再评价研究,以改进并完善参麦注射液的质量标准。目前已发现的人参皂苷已超过 100 种^[7],文献报道其中 R_{g_1} , Re 是人参的最主要活性成分^[8]。本实验采用高效液相色谱法,同时测定参麦注射液中指标成分人参皂苷 R_{g_1} , Re 的含量,对

[收稿日期] 20111226(015)

[基金项目] “十一·五”国家科技支撑计划项目(2006038086056);河南省重点科技攻关计划项目(10210231007)

[第一作者] 马静, 中药师, 硕士, 从事中药药代动力学研究, Tel: 15803860307, E-mail: summe328@163.com

[通讯作者] *李学林, 主任药师, 硕士, 从事中药上市后再评价和中药的应用形式的研究, Tel: 13703711133, E-mail: lixuelin450000@163.com

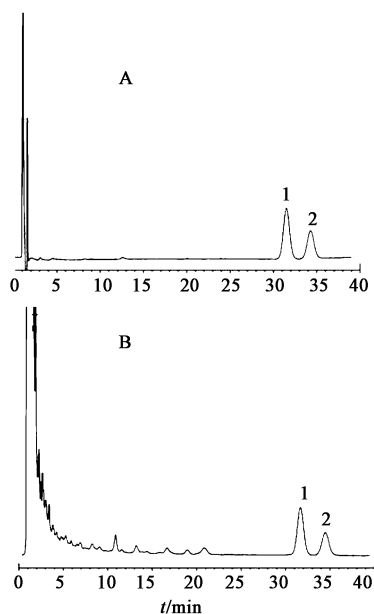
其中 5 个厂家的参麦注射液进行对比研究,为参麦注射液的质量控制提供一定的依据。

1 材料

岛津 LC-10A 型高效液相色谱仪, Sartorius-CP225D 型(1/10 万)电子天平(德国赛多利斯);参麦注射液(A 厂,批号 1001222,0910162,0909171,1004201,0909112),参麦注射液(B 厂,批号 090513),参麦注射液(C 厂,批号 090202),参麦注射液(D 厂,批号 08060912),参麦注射液(E 厂,批号 091212);人参皂苷 R_{g_1} 对照品(110703-200726,纯度 >98%)、人参皂苷 Re 对照品(110754-200822,纯度 >98%)均购自中国药品生物制品检定所;实验用水为超纯水;甲醇、乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 乙腈-水(19:81), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL, 在上述色谱条件下, 人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 与其他峰分离度 > 1.5, 峰形较好, 满足定量要求, 对照品及不同厂家参麦供试品的色图谱见图 1。



A. 混合对照品; B. 参麦注射液; 1. 人参皂苷 R_{g_1} ; 2. 人参皂苷 Re

图 1 人参皂苷和参麦注射液 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称定人参皂苷 R_{g_1} 对照品 5.37 mg, 人参皂苷 Re 对照品 3.10 mg 分别置同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容置刻度, 摇匀, 即得含人参皂苷 R_{g_1} , Re 分别为 0.214 8 g·L⁻¹ 和 0.124 0 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 分别取不同厂家及 A 厂

不同批次参麦注射液, 直接用 0.45 μm 膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察 精密移取混合对照品溶液 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 分别置 5 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 配制含人参皂苷 R_{g_1} 为 0.004 3, 0.021 5, 0.043 0, 0.086 0, 0.128 9, 0.171 8, 0.214 8 g·L⁻¹; 含人参皂苷 Re 为 0.002 5, 0.012 4, 0.024 8, 0.049 6, 0.074 4, 0.099 2, 0.124 0 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液; 吸取上述混合对照品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按 2.1 项下方法进行分析。分别以对照品进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线并进行回归计算, 得人参皂苷 R_{g_1} 回归方程为 $Y = 4\ 751\ 948.2X - 4\ 008.1$ ($r = 0.999\ 9$), 人参皂苷 R_{g_1} 进样量在 0.086 ~ 4.296 μg 线性关系良好。人参皂苷 Re 回归方程为 $Y = 4\ 925\ 720.3X - 5\ 803.4$ ($r = 0.999\ 8$), 人参皂苷 Re 进样量在 0.050 ~ 2.480 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取参麦注射液, 依 2.3 项下制备供试品溶液, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 结果表明人参皂苷 R_{g_1} , Re 的 RSD 分别为 1.3%, 1.6%。

2.6 重复性试验 取参麦注射液, 依 2.3 项下制备供试品溶液 6 份, 测得人参皂苷 R_{g_1} 平均质量浓度为 0.187 g·L⁻¹; 人参皂苷 Re 为 0.079 g·L⁻¹; RSD 依次为 1.2%, 1.4%。

2.7 稳定性试验 取参麦注射液, 依 2.3 项下制备供试品溶液, 室温放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 按 2.1 项下进行分析。结果表明人参皂苷 R_{g_1} , Re 在 24 h 内稳定, RSD 分别为 0.75%, 0.67%。

2.8 回收率试验 准确量取已知含量的参麦注射液 1 mL, 置于 2 mL 量瓶中, 准确加入 2.2 项下人参皂苷混合对照品溶液 0.85 mL, 依 2.3 项下制备供试品溶液, 结果见表 1。

2.9 含量测定 按 2.3 项下制备供试品溶液, 注入高效液相色谱仪, 进样 20 μL, 测定不同厂家参麦注射液中人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 Re 的含量, 结果见表 2。

3 讨论

通过对比可知, 同一厂家不同批次间参麦注射液的人参皂苷 R_{g_1} , Re 含量存在一定的差异, 而不同生产厂家参麦注射液中人参皂苷 R_{g_1} , Re 含量波动较大, B 厂参麦注射液的人参皂苷 R_{g_1} 含量是 E 厂的 40 多倍, 人参皂苷 Re 的含量相差十几倍。参麦注射液原料药红参的质量参差, 部颁标准以人参皂苷总量作为检测标准, 且只规定下限^[9], 仅

表 1 参麦注射液中两种成分的加样回收率(n=6)

测定成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
人参皂苷 R _{g1}	0.188 0	0.182 6	0.368 2	98.7	99.5	1.11
	0.188 0	0.182 6	0.371 6	100.5		
	0.188 0	0.182 6	0.370 2	99.8		
	0.188 0	0.182 6	0.368 0	98.6		
	0.188 0	0.182 6	0.368 8	99.0		
	0.188 0	0.182 6	0.371 2	100.3		
人参皂苷 Re	0.079 7	0.105 4	0.185 2	100.1	100.7	1.32
	0.079 7	0.105 4	0.184 8	99.7		
	0.079 7	0.105 4	0.185 0	99.9		
	0.079 7	0.105 4	0.188 2	102.9		
	0.079 7	0.105 4	0.185 0	99.9		
	0.079 7	0.105 4	0.187 0	101.8		

表 2 不同厂家及 A 厂不同批次参麦注射液中两种成分含量(n=5)

厂家	批号	人参皂苷 R _{g1}	人参皂苷 Re
A	1001222	0.188 0	0.079 7
A	0910162	0.166 1	0.073 4
A	0909171	0.119 9	0.049 5
A	0909112	0.129 1	0.052 6
A	1004201	0.192 8	0.083 9
A	0912082	0.155 9	0.065 1
B	090513	0.204 9	0.104 3
C	090202	0.114 3	0.049 3
D	08060912	0.022 9	0.011 1
E	091212	0.005 0	0.009 0

据此标准很难反映上述所观察到的差异。个别自拟质量标准中虽然以单指标或多指标成分作为质控标准,但指标成分的含量控制上下限相差非常大,不利于其质量的控制。药物发挥药效的物质基础是化学

成分,拟定指标成分含量多少与疗效稳定性存在密切的关系,而且参麦注射液成分较为复杂,含多糖、多肽、酶、皂苷、蛋白质等未提纯大分子,有些大分子物质具有抗原性,机体受抗原刺激后,会产生抗原抗体反应,引起过敏反应^[10],因此中药注射剂中质控指标成分的含量测定与质控范围的合理拟定就显得至关重要。

[参考文献]

- [1] 冯陆冰,李莉,马青松. 参麦注射液在儿科中的临床应用[J]. 中国药业,2007,16(22):63.
- [2] 吴吉林. 参麦注射液对气虚或(和)阴虚证的临床疗效与安全性观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):322.
- [3] 张涛,凌解春,秦裔丽. 参麦注射液临床新用[J]. 时珍国医国药,2005,16(3):245.
- [4] 王恒和,毛静远,张振鹏,等. 参麦注射液对心衰犬肿瘤坏死因子 α 、白介素 1β 、白介素6的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):105.
- [5] 江宏革. 参麦注射液对心肌梗死患者血液流变学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):259.
- [6] 韩朝宏,梁月冬. 参麦注射液不良反应分析[J]. 中国药事,2005,19(4):255.
- [7] Wang J H. Chemical study on ginseng[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 3.
- [8] LI X, WANG G, SUN J, et al. Pharmacokinetic and absolute bioavailability study of total panax notoginsenoside, a typical multiple constituent traditional Chinese medicine (TCM) in rats[J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(5): 847.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂. 第18册[S]. 1998: WS3-B-3428-98.
- [10] 符壮,陈玲,梁建珍. 参麦注射液致不良反应108例分析与评价[J]. 新中医,2009,41(11):10.

[责任编辑 顾雪竹]