

HPLC 测定复方西洋参泡腾片中人参皂苷 及维生素 C 的含量

王婴^{*}, 王岩, 郭子扬, 钟志良, 叶国强
(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:建立复方西洋参泡腾片中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 及维生素 C 的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),人参皂苷及维生素 C 的流动相分别为乙腈-0.1% 磷酸溶液(梯度洗脱)和甲醇-0.1% 磷酸溶液(3:97),检测波长 203 nm 和 254 nm。结果:人参皂苷 Rg₁ 线性范围 0.050 4 ~ 1.26 μg,平均加样回收率 98.59%;人参皂苷 Re 线性范围 0.336 ~ 8.4 μg,平均加样回收率 99.11%;人参皂苷 Rb₁ 线性范围 1.052 ~ 26.3 μg,平均加样回收率 98.12%;维生素 C 线性范围 0.806 4 ~ 20.16 μg,平均加样回收率 97.50%。结论:建立的方法简便、重复性好、准确度高,可用于该产品的质量控制。

[关键词] 复方西洋参泡腾片; 高效液相色谱; 人参皂苷; 维生素 C

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0122-04

Content Determination of Ginsenosides and Vitamin C in Compound Effervescent Tablets of Radix Panacis Quinquefolii by HPLC

WANG Ying^{*}, WANG Yan, GUO Zi-yang, ZHONG Zhi-liang, YE Guo-qiang
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the content determination method for ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, ginsenoside Rb₁ and vitamin C in Compound Effervescent Tablets of Radix Panacis Quinquefolii. **Method:** HPLC method was adopted. The chromatographic column was Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column. The mobile phases were acetonitrile-0.1% phosphate solution (gradient elution) and methanol-0.1% phosphate solution (3:97) respectively. The detection wavelengths were set at 203 nm and 254 nm. **Result:** The concentration have good linear correlations within the range of 0.050 4-1.26 μg for notoginsenoside Rg₁, 0.336-8.4 μg for ginsenoside Re, 1.052-26.3 μg for notoginsenoside Rb₁ and 0.806 4-20.16 μg for vitamin C. The average recovery rates were 98.59%, 99.11%, 98.12% and 97.50% respectively. **Conclusion:** The method is simple, reproducible and accurate, and applicable for the quality control of the product.

[Key words] compound effervescent tablets of Radix Panacis Quinquefolii; HPLC; ginsenoside; vitamin C

复方西洋参泡腾片由西洋参、维生素 C、牛磺酸组方而成。西洋参中含有多种人参皂苷,具有滋阴降火、养胃生津、滋补提神等功效^[1]。西洋参提取物与维生素 C、牛磺酸合用,既能增强免疫力、缓解

体力疲劳,同时又能补充身体必须营养素。本研究采用高效液相色谱法测定复方西洋参泡腾片中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 及维生素 C 的含量,为该制剂的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

LC-20AT 型高效液相色谱仪、SPD-20A 紫外检测器(日本岛津), Diamonsil C-18(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 迪马科技), BP-211D 型电子分析天平(1/10 万,北京赛多利斯科学仪器有限公司)。人参皂苷对照品 Rg₁、人参皂苷对照品

[收稿日期] 20120727(017)

[基金项目] 广东省科技计划项目(粤科规划字[2012]145号)

[通讯作者] * 王婴, 硕士, 实验师, 从事药物新剂型与质量控制研究, Tel: 0760-88207937, E-mail: 1248322680@qq.com

Re、人参皂苷对照品 Rb₁ (中国药品生物制品检验所,批号 110703-201027, 110754-201123, 110704-201122),维生素 C 对照品(中国药品生物制品检验所,批号 100425-201103),复方西洋参泡腾片(自制,规格 5 g/片),色谱乙腈、甲醇(天津四友精细化学品有限公司),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷含量测定

2.1.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,检测波长 203 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 20 μL,以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相,采用梯度洗脱,洗脱程序见表 1^[2-3]。

表 1 人参皂苷 HPLC 测定梯度洗脱程序

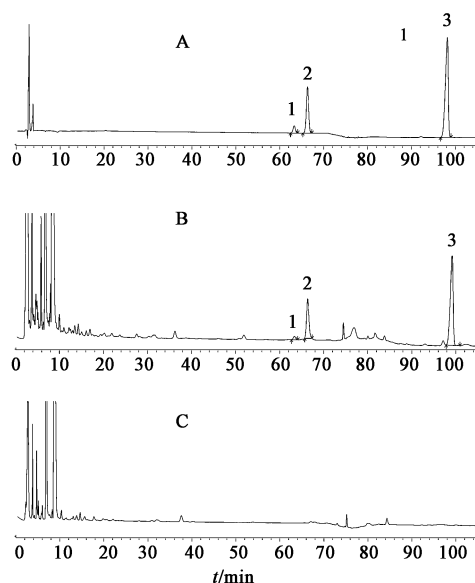
t/min	乙腈/%	0.1% 磷酸溶液/%
0 ~ 15	19	81
15 ~ 65	23	77
65 ~ 110	31	69

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品 0.63 mg, 人参皂苷 Re 对照品 4.20 mg, 人参皂苷 Rb₁ 对照品 13.15 mg, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。

2.1.3 供试品及阴性对照溶液的制备 取样品 5 片,研细,取 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇 50 mL,称定质量,加热回流提取 1.5 h,放冷,再称定质量,用水饱和正丁醇补足质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 mL,置蒸发皿中,蒸干,残渣加 50% 甲醇适量溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得;另按处方比例和制备工艺制成缺西洋参的阴性样品,按供试品溶液的制备方法同法处理,得阴性对照溶液。

2.1.4 专属性试验 取上述对照品,供试品及阴性样品各 20 μL 进样分析,结果表明,在与人参皂苷对照品色谱的相应位置上无干扰峰出现,说明方中其他成分对测定结果无影响,见图 1。

2.1.5 线性关系考察 精密量取对照品溶液 1 mL,分别置 1,2,5,10,25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取上述对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,以峰面积积分为纵坐标、进样量为横坐标绘制标准曲线,结果人参皂苷 Rg₁ 回归方程 $Y = 4\ 116\ 659X$ ($r = 0.999\ 5$),线性范围 0.050 4 ~ 1.26 μg; 人参皂苷 Re 回归方程: $Y = 3\ 927\ 125 X$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围 0.336 ~ 8.4 μg; 人参皂苷 Rb₁



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照;

1. 人参皂苷 Rg₁; 2. 人参皂苷 Re; 3. 人参皂苷 Rb₁

图 1 西洋参泡腾片中人参皂苷测定 HPLC

回归方程 $Y = 3\ 315\ 046X$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围 1.052 ~ 26.3 μg。

2.1.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液在上述色谱条件下重复进样 6 次,每次进样 20 μL,测定峰面积,结果人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 含量的 RSD 分别为 1.45%, 0.67%, 0.20%, 表明精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 20 μL,测定峰面积,结果人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 含量的 RSD 分别为 0.11%, 0.09%, 0.25%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.1.8 重复性试验 取同一批复方西洋参泡腾片,按 2.1.3 项下方法制备成 6 份供试品溶液,并照上述色谱条件平行测定,结果人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 含量的 RSD 分别为 0.33%, 0.39%, 0.28%, 表明方法重现性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取已知含量的样品人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 含量分别为 0.135 1, 1.550 5, 5.390 1 mg·g⁻¹ 约 1 g 共 6 份,精密称定,分别精密加入人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 对照品甲醇溶液(浓度分别为 0.142, 1.49, 5.23 g·L⁻¹) 1 mL,挥干溶剂,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果见表 2。

2.1.10 样品测定 取复方西洋参泡腾片 3 批,按

2.1.3 项下方法配制供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液 20 μL,按上述色谱条件测定,计算样品中各人参皂苷的含量,结果见表 3。

表 2 加样回收率试验

成分	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
Rg ₁	1.002 3	0.135	0.142	0.279	101.4	98.59	2.26
	1.001 1	0.135	0.142	0.278	100.7		
	1.001 2	0.135	0.142	0.273	97.18		
	1.001 8	0.135	0.142	0.276	99.3		
	1.001 0	0.135	0.142	0.271	95.77		
Re	1.001 5	0.135	0.142	0.273	97.18		
	1.002 3	1.55	1.49	3.01	97.99	99.11	1.95
	1.001 1	1.55	1.49	2.98	95.97		
	1.001 2	1.55	1.49	3.03	99.33		
	1.001 8	1.55	1.49	3.05	100.7		
Rb ₁	1.001 0	1.55	1.49	3.03	99.33		
	1.001 5	1.55	1.49	3.06	101.3		
	1.002 3	5.40	5.23	10.56	98.66	98.12	1.97
	1.001 1	5.40	5.23	10.37	95.03		
	1.001 2	5.40	5.23	10.53	98.09		
1.001 8	5.40	5.23	10.58	99.04			
1.001 0	5.40	5.23	10.67	100.8			
1.001 5	5.40	5.23	10.48	97.13			

表 3 样品人参皂苷含量测定 mg/片

批号	Rg ₁	Re	Rb ₁
111204	0.69	8.40	27.25
111208	0.67	8.15	27.45
111212	0.65	7.95	26.55

2.2 维生素 C 含量测定

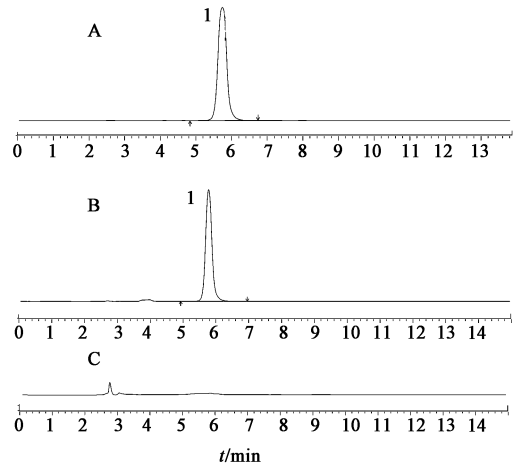
2.2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,检测波长 254 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 20 μL,流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(3:97)^[4-5]。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取维生素 C 对照品 10.08 mg,置 10 mL 量瓶中,加 0.1% 磷酸溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 供试品及阴性对照溶液的制备 取样品 5 片,研细,取 0.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 0.1% 磷酸溶液溶解并至刻度,摇匀;另按处方比例

和制备工艺制成缺维生素 C 的阴性样品,按供试品溶液的处理方法,制得阴性对照溶液。

2.2.4 专属性试验 取上述对照品、供试品及阴性对照溶液各 20 μL 进样测定,结果表明,在与维生素 C 对照品色谱的相应位置上无干扰峰出现,表明方中其他成分对测定结果无影响,见图 2。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 维生素 C

图 2 西洋参泡腾片中维生素 C 测定 HPLC

2.2.5 线性关系考察 精密量取对照品溶液 1 mL,分别置 1,2,5,10,25 mL 量瓶中,加 0.1% 磷酸溶液稀释至刻度,摇匀,配成质量浓度为 0.040 32,0.100 8,0.201 6,0.504,1.008 g·L⁻¹ 的对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,以峰面积分值为纵坐标、进样量为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 2\ 026\ 600X$ ($r = 0.999\ 3$),维生素 C 在 0.806 4 ~ 20.16 μg 具有良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 20 μL,在上述色谱条件下重复进样 6 次,测定其峰面积,结果 RSD 1.51%,表明精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0,2,4,6,8 h 进样 20 μL,测定峰面积,结果 RSD 1.07%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.8 重复性实验 取同一批复方西洋参泡腾片,按 2.2.3 项下方法制备成 6 份供试品溶液,并照上述色谱条件平行测定,结果维生素 C 含量的 RSD 0.90%,表明方法重现性良好。

2.2.9 加样回收试验 取已知含量的样品(维生素 C 质量分数 27.9 mg·g⁻¹)约 0.25 g 共 6 份,精密称定,分别精密加入 6.40 g·L⁻¹ 的维生素 C 对照品溶液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加 0.1% 磷酸溶液至刻度,摇匀。精密吸取 20 μL,按上述色谱条件进样测定,计算回收率,结果见表 4。

表4 维生素C加样回收率试验

样品量 /g	样品含量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.2505	6.99	13.3	98.59	97.50	1.28
0.2502	6.98	13.11	95.78		
0.2511	7.01	13.35	99.06		
0.2504	6.99	13.19	96.88		
0.2510	7.00	13.27	97.97		
0.2519	7.03	13.22	96.72		

注:加入量均为6.40 mg。

2.2.10 样品测定 取复方西洋参泡腾片3批(批号111204,111208,111212),按2.2.3项下方法配制供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液20 μ L,按上述色谱条件测定,计算样品中维生素C的含量,结果含量分别为139.35,142.65,141.55 mg/片。

3 讨论

对提取条件进行了考察,比较了加热回流(1,1.5,2 h)与超声处理(30,45,60 min)的提取效果。结果表明,加热回流1.5 h对人参皂苷的提取率最高。

维生素C在中性或碱性水溶液中易被氧化,但

在酸性溶液中却很稳定,因此用0.1%磷酸溶液为溶剂来溶解样品及对照品,曾考虑以有机溶剂甲醇作为溶剂溶解样品,但发现测定时维生素C分裂成2个小峰,估计为维生素C分解所致;由于维生素C对光不稳定,且易被氧化分解,故实验过程中应尽可能避光操作,样品处理时应采用棕色容器,流动相应经彻底脱气后使用。

[参考文献]

- [1] 赵树清,载新荣.西洋参研究进展[J].广东药学,2005,5(6):63.
- [2] 吴晓放,蒋李.复方西洋参丸的制备及质量控制[J].实用医药杂志,2008,25(7):814.
- [3] 苑雅萍,李云涛,郭佳.超HPLC测定参芪颗粒中人参皂苷R_{g1},Re,Rb₁的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):74.
- [4] 王蕊,姜丽,袁航,等.高效液相色谱法测定维生素C片的含量[J].黑龙江医药,2010,23(6):876.
- [5] 薛志杰,赵玉新.高效液相色谱法测定刺五加Vc口服液维生素C的含量[J].黑龙江科技信息,2009,(8):175.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅2013年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。本刊立足于行业报道的前沿,关注相关的政策动态,跟踪报道中医药重大课题,及时分析报道中医药的新政策、新技术、新发明、新成果、新疗法,努力使信息的选择与表达方式能够充分体现中医药发展水平,为广大读者提供一流的信息服务。

《中国中医药信息杂志》1994年创刊,2002年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已被波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等国际检索系统收录。

《中国中医药信息杂志》是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、中医药发展论坛、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、研究与进展、论著、实验研究、流行病学调查、质量标准研究、制剂与工艺、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学等。

《中国中医药信息杂志》为月刊,大16开国际开本,112页,国内外公开发行,每册定价10元,全年120元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街16号《中国中医药信息杂志》编辑部 邮编:100700 电话:010-64014411-3278 E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn