

# HPLC 测定参松养心胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量

莫炫永\*

(东莞市国药质量检测中心, 广东 东莞 523010)

**[摘要]** **目的:**建立高效液相色谱(HPLC)测定参松养心胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量的方法,为参松养心胶囊的质量标准控制提供理论依据。**方法:**样品经甲醇回流提取 2 h,水饱和正丁醇萃取,氨试液洗涤。采用 Agilent 1200RRLC 高分离度快速液相色谱仪, waters XTERRA® MS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,柱温室温,流动相乙腈-水(53:47),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 203 nm,进样体积 40 μL。**结果:**人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 进样量在 5.0~200.0 mg·L<sup>-1</sup>与峰面积呈良好线性关系( $r = 0.9989$ );平均回收率为 100.31%,RSD 1.98%。**结论:**实验所建立的方法专属性强,准确度高,重复性好,可作为参松养心胶囊质量控制。

**[关键词]** 高效液相色谱;参松养心胶囊;人参皂苷 Rb<sub>1</sub>

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0112-03

## Determination of Ginsenoside Rb<sub>1</sub> in Shensong Yangxin Capsules by HPLC

MO Xuan-yong\*

(Guoyao Quality Inspection Center in Dongguan City, Dongguan 523010, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for measuring the content of Ginsenoside Rb<sub>1</sub> in Shensong Yangxin capsules by HPLC, in order to provide theoretical basis for the quality standards of Shensong Yangxin capsules. **Method:** The Ginsenoside Rb<sub>1</sub> from Shensong Yangxin capsules was extracted by methanol reflux extraction 2 h, and then extracted by water-saturated n-butanol with, ammonia solution washing. The content of Ginsenoside Rb<sub>1</sub> in Shensong Yangxin capsules was measured by HPLC, the instrument and chromatographic conditions was Agileni1100 high-performance liquid chromatograph, waters XTERRA® MS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), column temperature: room temperature; mobile phase: acetonitrile-water (53:47); flow rate 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; detection wavelength 203 nm; injection volume 40 μL. **Result:** The Ginsenoside Rb<sub>1</sub> within the range of 5.0-200.0 mg·L<sup>-1</sup> was linear with the peak area,  $r = 0.9989$ ; the average recovery was 100.31%, RSD 1.98%. **Conclusion:** The established method has strong specificity, high accuracy and good reproducibility, it can be used as quality control of Shensong Yangxin capsules.

**[Key words]** HPLC; Shensong Yangxin capsules; ginsenoside Rb<sub>1</sub>

参松养心胶囊是由主要由人参、麦冬、五味子、山茱萸、酸枣仁、桑寄生、丹参、赤芍、土鳖虫、甘松、黄连、龙骨等组成,是在络病理论指导下,根据祖国医学辨证分型基础上研创的一种新型抗心律失常中药制剂。它可以明显降低冠状动脉阻力、减少心肌耗氧量、改善心肌缺血、调节自主神经功能、具有良

好的抗心律失常作用<sup>[1]</sup>,对急性冠状动脉综合征、心力衰竭、心肌缺血、脑心综合征等,参松养心胶囊都能充分发挥其抗心律失常的整体协同作用<sup>[2-4]</sup>。参松养心胶囊处方中人参为君药,其皂苷类成分为主要有效成分。有关中药人参饮片及其制剂中人参皂苷的含量测定研究众多<sup>[5-7]</sup>,目前采用 HPLC 方法对参松养心胶囊含量的测定仅局限于马钱苷、五味子酯甲<sup>[8-9]</sup>,而目前尚未见采用 HPLC 对参松养心胶囊中人参皂苷含量的分析报道。因此,本文采用 HPLC 测定参松养心胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量,旨在为参松养心胶囊的质量控制提供理论支撑。

**[收稿日期]** 20111230(002)

**[通讯作者]** \*莫炫永,主管药师,本科,从事药物分析质量控制、管理研究, Tel: 0769-22389257, E-mail: mxy9329cn@yahoo.com.cn

## 1 仪器和试剂

Agilent 1200RRLC 型高分离度快速液相色谱仪(包括 G1314B VWD SL 紫外检测器, G1312B Bin Pump SL 二元泵, G1316B TCC SL 柱温箱, G1329B ALS SL 标准自动进样器美国安捷伦科技有限公司), KQ2200DB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司), BP211D, CP224S 型电子天平(赛多利斯仪器有限公司), ZK-82A 型真空干燥箱(上海市实验仪器总厂), 电热恒温水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂), TDL-40B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

参松养心胶囊(河北以岭药业有限公司, 批号 090330, 091201, 091216)。人参皂苷 Rb<sub>1</sub>(中国药品生物制品检定所, 批号 110704-200420)。乙腈为色谱纯(德国 merk 公司), 水为超纯水。所有试剂上 HPLC 前均经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤并超声脱气。

## 2 方法与结果

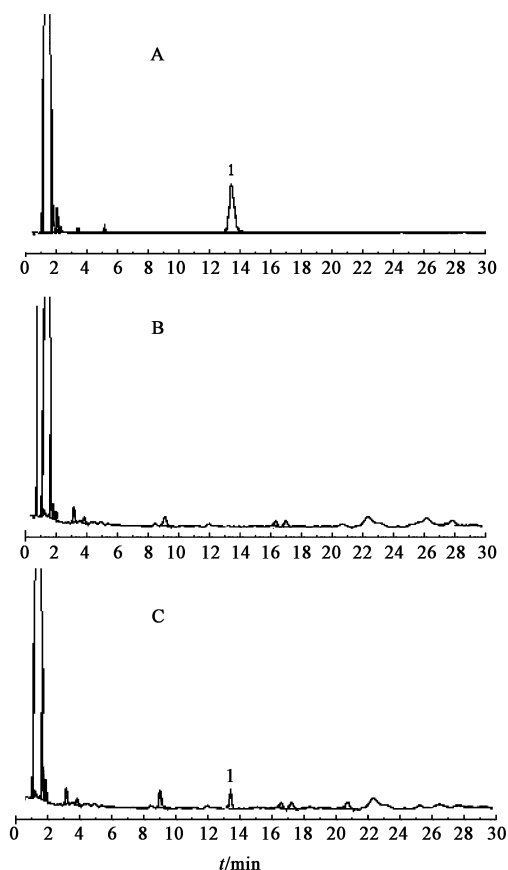
**2.1 供试品溶液的制备** 精密称取参松养心胶囊内容物 8 g, 加甲醇 100 mL 回流提取 2 h, 滤过, 用甲醇洗残渣 3 次, 合并滤液后置蒸发皿中蒸干。残渣加水 40 mL 溶解, 乙醚萃取 2 次, 每次 40 mL, 水饱和正丁醇萃取 2 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇层, 氨试液洗 2 次, 每次 40 mL, 正丁醇层蒸干溶剂<sup>[10]</sup>。残渣加水 10 mL 溶解移至 D101 大孔吸附树脂柱(1.5 cm × 12 cm)以水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 70% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 甲醇 100 mL 定容, 即得。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品 10 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.40 mg 的对照品溶液。

**2.3 阴性对照液的制备** 按照参松养心胶囊处方制备不含人参药材的阴性对照样品, 依照 2.2 项下方法制成阴性对照品溶液。

**2.4 色谱条件及专属性实验** 采用 Waters XTERRA® MS C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温室温, 流动相乙腈-水(53:47), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 203 nm, 进样体积 40 μL。按照此色谱条件, 分别精密吸取对照溶液、供试品溶液和阴性对照液各 40 μL, 注入高效液相色谱仪中, 结果在此色谱条件下, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 色谱峰达到基线分离, 阴性样品对样品测定无干扰。结果见图 1。

**2.5 标准曲线与线性范围** 精密吸取对照品贮备液, 用甲醇依次稀释至 200.0, 100.0, 50.0, 25.0, 5.0



1. 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; A. 对照品; B. 阴性对照; C. 样品

图 1 参松养心胶囊 HPLC

mg·L<sup>-1</sup>, 按照上述色谱条件, 分别进样 40 μL 测定。以人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 4.011X + 3.621$  ( $r = 0.9989$ )。结果表明, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 在 5.0 ~ 200.0 mg·L<sup>-1</sup> 呈良好的线性关系。

**2.6 精密度试验** 吸取人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品溶液, 按照上述色谱条件连续进样 6 次, 测定峰面积值。结果人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 峰面积的 RSD 2.23%, 表明仪器精密度良好。

**2.7 重复性试验** 取同一批号的参松养心胶囊样品(批号 090330)6 份, 每份约 1.0 g, 按 2.1 项下平行制备供试品溶液, 测定每份供试品中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量, 结果人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量的 RSD 1.41%。表明本方法重复性良好。

**2.8 稳定性试验** 取供试品溶液(批号 090330)在室温下条件下避光放置, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后进样, 测定峰面积值。结果峰面积值的 RSD 0.34%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.9 加样回收率试验** 精密称取已知人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量的参松养心胶囊(批号 090330)内容物 6

份,每份约 0.4 g,分别加入人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品 2.112 mg,按 2.1 项下方法制备溶液,按上述色谱条件测定,平均回收率为 100.31%,RSD 1.98% (n = 6)。表明本方法的回收率较好,结果见表 1。

表 1 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 加样回收率试验

样号	取样量 /g	样品中的量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
1	4.03	2.495	2.112	4.568	98.2	100.31	1.98
2	4.04	2.501	2.112	4.692	103.7		
3	3.98	2.464	2.112	4.566	99.5		
4	4.05	2.507	2.112	4.638	100.9		
5	4.07	2.519	2.112	4.601	98.6		
6	4.01	2.482	2.112	4.614	100.9		

2.10 样品含量测定 取不同批号(批号 090330, 091201, 091216)参松养心胶囊粉末内容物,每批分别取 3 份,每份取样量约为 2.0 g,按 2.1 项下方法制备样品溶液,按上述设定的色谱条件测定样品中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量,平均含量分别为 0.619, 0.609, 0.602 mg·g<sup>-1</sup> (n = 3)。从本实验结果来看,建议参松养心胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量不应低于 0.619 mg·g<sup>-1</sup>。结果见表 2。

表 2 参松养心胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量测定

批号	取样量 /g	峰面积	样品中含量 /mg·g <sup>-1</sup>	平均含量 /mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%
090330	2.070	412 538	0.619	0.619	0.32
	2.077	413 937	0.621		
	2.087	415 910	0.617		
091201	2.114	421 237	0.631	0.609	3.46
	2.213	440 967	0.589		
	2.117	421 829	0.607		
091216	2.039	406 380	0.610	0.602	1.20
	2.474	493 054	0.596		
	2.113	411 039	0.600		

### 3 讨论

考察了提取溶剂、提取方法对提取得率的影响,以不同极性的有机溶剂(甲醇、正丁醇、70%乙醇)提取样品,在前期的实验中,分别用一样品不同溶剂回流提取 30 min 后检测,甲醇的提取得率最高,而正丁醇、70%乙醇的提取得率相对较低。以甲醇为

提取溶剂,分别采用超声提取、回流提取和索氏提取器提取 30 min 后检测,结果回流提取最为完全。以甲醇溶媒,采用回流提取分别 30 min, 1, 2, 3 h, 结果以回流提取 2 h 提取得率最高。在提取过程中,发现水饱和和正丁醇萃取和氨试液洗涤可以减少杂质干扰,而通过大孔吸附树脂柱后,得到的色谱图清晰。因此,选定以甲醇回流提取 2 h,水饱和和正丁醇萃取,氨试液洗涤的方法进行样品提取。

考察了色谱分离检测的参数,包括流动相的组成比例、检测波长、柱温和流速等对人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 分离测定的影响。在流动相的选择时,由于人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对乙腈较敏感,故一定要注意乙腈的比例,尽量精确。

### [参考文献]

[1] 李艳红,闫胜敏. 参松养心胶囊联合心律平治疗频发室性早搏 30 例[J]. 中国药业, 2009, 18(13): 7374.

[2] 郭瑞兰,陈学敏,刘炜. 中药参松养心胶囊治疗室性心律失常疗效观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(9): 110.

[3] 周庆国,朱志勇. 参松养心胶囊联合胺碘酮预防房颤复发及对心功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 251.

[4] 曾红莲,张志民. 参松养心胶囊治疗脑心综合征的临床观察[J]. 临床合理用药, 2009, 2(9): 8.

[5] 陈英红,姜瑞芝,罗浩铭,等. 人参总皂苷提取物指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 12.

[6] 胡敏,李毓群,项雪燕. 人参、西洋参和三七的药效比较[J]. 海峡药学, 2011, 3(7): 112.

[7] 徐晶,窦德强. 人参的质量标准研究[J]. 中国现代中药, 2008, 10(3): 21.

[8] 辛海莉,何新荣,刘萍,等. 高效液相色谱法测定参松养心胶囊中马钱苷含量[J]. 中国药物应用与监测, 2011, 20(8): 37.

[9] 辛海莉,李巍,刘萍,等. HPLC 法测定参松养心胶囊中五味子酯甲的含量[J]. 中国药物应用与监测, 2011, 8(2): 88.

[10] 钟祖群,钟建,廖学运. HPLC-ELSD 法测定参茸片中人参皂苷的含量[J]. 四川中医, 2007, 25(8): 46.

[责任编辑 顾雪竹]