

# HPLC 测定参芪颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 的含量

苑雅萍<sup>\*</sup>, 李云涛, 郭佳超  
(哈药集团世一堂制药厂, 哈尔滨 150088)

[摘要] 目的: 建立参芪颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 的含量测定方法。方法: 采用高效液相法对制剂中的人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 进行含量测定。结果: 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 在 0.26 ~4.2 μg 线性关系良好,  $r=0.9998$ , 平均回收率 99.4%, RSD 0.7%; 人参皂苷 Re 在 1.0 ~16.2 μg 线性关系良好,  $r=0.9999$ , 平均回收率 99.6%, RSD 0.7%; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 在 2.5 ~40.2 μg 线性关系良好,  $r=0.9999$ , 平均回收率 99.2%, RSD 0.7%。结论: 样品处理方法合理, 方法学考察符合定量要求, 结果准确, 可用于参芪颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 的含量测定。

[关键词] 参芪颗粒; 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0074-03

## Determination of Ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in Shenqi Particle by HPLC

YUAN Ya-ping<sup>\*</sup>, LI Yun-tao, GUO Ja-chao

(Shiyitang Pharmaceutical Factory of Harbin Pharmaceutical Group, Harbin 150088, China)

**[Abstract] Objective:** To establish a method for the determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in Shenqi Particle. **Method:** The contents of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> in Shenqi Particle were determined by HPLC. **Result:** The resolutions of the determined peaks were fine. The linearity ranges for ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> were 0.26-4.2 μg ( $r=0.9998$ ), 1.0-16.2 μg ( $r=0.9999$ ) and 2.5-40.2 μg ( $r=0.9999$ ) respectively. The average recoveries were 99.4% with RSD 0.7%, 99.6% with RSD 0.7%, 99.2% with RSD 0.7%. **Conclusion:** The quantitative method for the determination was feasible, and beneficial to the quality control of Shenqi Particle.

**[Key words]** Shenqi Particle; ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>; HPLC

参芪颗粒由黄芪、人参、白芍等药味组成, 具有养血调肝、濡润筋脉等功效。为了控制产品质量, 本文用 HPLC 对本品中所含人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 进行了含量测定。

### 1 仪器与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪, 包括 G1379A 脱气机, G1311A 四元泵, G1316A 柱温箱, G1314A 可变波长检测器, G1328B 手动进样器及支架, G2170AA 色谱工作站。

人参皂苷 Rg<sub>1</sub> (批号 110703-200424)、人参皂苷 Re (批号 110754-200421)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> (批号 110704-200420) 由中国药品生物制品检定所提供。

乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水, 参芪颗粒(自制)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱 Agilent-C<sub>18</sub> (4.6 mm ×250 mm, 5 μm); 流动相 0 ~20 min 乙腈-水(20:80), 20 ~60 min 乙腈-水(42:58); 检测波长为 203 nm; 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 40 °C; 理论板数按人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 峰计不低于 5 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 6.5 mg、人参皂苷 Re<sub>2</sub> 5.24 mg、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 62.76 mg, 至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 稀释即得每 1 mL 含人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.104 mg、人参皂苷 Re 0.404 mg、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 1.004 mg 的混合溶液<sup>[1]</sup>。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末(过三号筛)约 10 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 置水浴中加热回流提取 1.5 h, 放

[收稿日期] 20100504(003)

[通讯作者] \* 苑雅萍, Tel: 0451-86386848, E-mail: guoshubin19770715@126.com

冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 mL,置蒸发皿中,蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次 40 mL,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤 2 次,每次 40 mL,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,并转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得<sup>[2,3]</sup>。

**2.4 专属性考察试验** 按处方比例制成阴性样品,照 2.3 项下方法制备阴性对照液,精密吸取 10  $\mu$ L 测定,结果在人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 对照品相同保留时间位置上均未见干扰。

**2.5 线性范围的考察** 精密称取人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 对照品 6.5 mg, 人参皂苷 Re 对照品 25.24 mg, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品 62.76 mg, 置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得标准品贮备液。分别精密吸取上述标准品贮备液 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mL 置 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别制成每 1 mL 含人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.026 mg, Re 0.101 mg, Rb<sub>1</sub> 0.251 mg, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.052 mg, Re 0.202 mg, Rb<sub>1</sub> 0.502 mg, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.104 mg, Re 0.404 mg, Rb<sub>1</sub> 1.004 mg, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.208 mg, Re 0.808 mg, Rb<sub>1</sub> 2.008 mg, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 0.416 mg, Re 1.616 mg, Rb<sub>1</sub> 4.016 mg 的溶液,分别精密吸取上述溶液各 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,记录色谱图。以进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 回归方程为  $Y=2\ 274.110\ 00X+7.665\ 10$  ( $r=0.999\ 8$ ),线性范围为 0.26 ~4.2  $\mu$ g; 人参皂苷 Re 回归方程为  $Y=2\ 506.187\ 27X+33.522\ 35$  ( $r=0.999\ 9$ ),线性范围为 1.0 ~16.2  $\mu$ g; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 回归方程为  $Y=2\ 092.680\ 36X+79.167\ 79$  ( $r=0.999\ 9$ ),线性范围在 2.5 ~40.2  $\mu$ g。

**2.6 回收试验** 精密称取已知含量的同一批样品 5 g,分别精密加入一定量的人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品,按供试品溶液制备项下操作,平行操作 6 份,按 2.1 项下条件测定含量,计算回收率。结果见表 1 ~3。

**2.7 精密度试验** 吸取上述混合对照品溶液 10  $\mu$ L 注入液相色谱仪,重复进样 6 次,计算峰面积 RSD 1.0%。

**2.8 重复性试验** 取同一批号的参芪颗粒,按 2.3 供试品溶液制备方法制备六份样品,色谱条件如上所述,计算 RSD 0.3%,说明重复性较好。

表 1 参芪颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 加样回收率结果

No.	样品中含量 /mg	加入对照品量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.507	1.51	3.011	99.60	99.4	0.7
2	1.519	1.51	3.021	99.47		
3	1.498	1.51	3.016	100.53		
4	1.512	1.51	3.009	99.14		
5	1.510	1.51	2.998	98.60		
6	1.506	1.51	3.000	98.99		

表 2 参芪颗粒中人参皂苷 Re 加样回收率结果

No.	样品中含量 /mg	加入对照品量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	10.490	10.52	21.06	100.48	99.6	0.7
2	10.531	10.52	21.02	99.71		
3	10.481	10.52	20.98	99.80		
4	10.502	10.52	20.86	98.46		
5	10.460	10.52	20.98	100.00		
6	10.524	10.52	20.94	99.01		

表 3 参芪颗粒中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 加样回收率结果

No.	样品中含量 /mg	加入对照品量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	16.051	16.06	32.108	99.98	99.2	0.7
2	16.023	16.06	32.046	99.77		
3	15.996	16.06	31.826	98.57		
4	15.965	16.06	31.986	99.76		
5	16.120	16.06	31.916	98.36		
6	16.048	16.06	31.876	98.56		

**2.9 稳定性试验** 取同一供试溶液,每隔 2 h 测定一次,结果表明在 10 h 稳定性良好。

**2.10 样品测定** 取 3 批样品按 2.3 项下方法制得供试品溶液,分别吸取上述对照品溶液和供试品溶液 10  $\mu$ L,依次注入液相色谱仪,按 2.1 项下条件测定,以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 的质量分数之和计算,测定结果分别为 5.6, 4.9, 5.3 mg·g<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

分别取人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> 对照品(约 0.1 g·L<sup>-1</sup>),在 400 ~190 nm 扫描,结果在波长 203 nm 处有最大吸收,参考有关文献,选用 203 nm 检测波长来测定,结果灵敏、准确。

(下转第 80 页)

# 水蒸气蒸馏法与超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取青翘挥发油的化学成分比较

邓超澄\*, 朱小勇, 韦建华, 卢汝梅, 卢澄生  
(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 分析比较青翘挥发油的化学成分。方法: 采用水蒸气蒸馏法(SD)及 CO<sub>2</sub> 超临界萃取法(SFE)提取青翘挥发油, 并用气相色谱-质谱联用法分析鉴定其化学成分。结果: SD法提取的挥发油分离出 87 个色谱峰, 共鉴定 58 个化合物, 占挥发油总量的 96.99%, SFE 提取的挥发油法分离出 100 个色谱峰, 鉴定 39 个化合物, 占挥发油总量的 60.50%。结论: SD 法提取的挥发油主要化学成分是  $\alpha$ -蒎烯,  $\beta$ -蒎烯, (-)-4-松油醇, 对伞花烃; SFE 法提取的挥发油主要化学成分是努特卡酮,  $\alpha$ -蒎烯, 对甲氧基桂皮酸乙酯。2 种提取方法的化学成分及其含量有较大差异。

[关键词] 青翘; 挥发油; CO<sub>2</sub> 超临界萃取; 水蒸气蒸馏; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0076-05

## Comparison for Essential Oils from *Forsythia suspense* by Steam Distillation and Supercritical Carbon Dioxide Extraction

DENG Chao-cheng\*, ZHU Xiao-yong, WEI Jian-hua, LU Ru-mei, LU Cheng-sheng

(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Department of Pharmacy, Nanning 530001, China)

**[Abstract] Objective:** To analyze the chemical constituents of the essential oils from *Forsythia suspense* by different extraction method. **Method:** The essential oils were extracted by steam distillation (SD) and by supercritical carbon dioxide extraction (SFE) accordingly, and then the constituents were separated and identified by GC-MS. **Result:** Eighty-seven compounds were isolated and 58 compounds were identified by SD that composed about 96.99% of the total essential oils; And 100 compounds were isolated and 39 compounds were identified by SFE that composed about 60.50% of the total essential oils. **Conclusion:** The principal chemical constituents of the essential oils by SD are  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene (-)-4-terpineol, *p*-cymene. And the principal chemical constituents of the essential oils by SFE are nootkatone,  $\alpha$ -pinene, transeethyl-*p*-methoxycinnamate. There are differences in the chemical constituents and contents by the two extraction methods.

**[Key words]** *Forsythia suspense*; essential oils; steam distillation; supercritical carbon dioxide extraction; GC-MS

连翘 *Forsythia suspense* (Thunb.) Vahl 为木犀科植物连翘的干燥果实, 分布在我国山西、河南、陕西、山东等地, 其主要含有连翘苷、连翘酯苷、齐墩果酸等, 有强心、利尿、镇吐等药理作用, 具清热解毒、消

肿散结的功效, 主治风湿感冒、温病、热淋尿闭、痈疽、肿毒、瘰疬、癭瘤等症<sup>[1]</sup>。根据其采收期不同, 连翘可分为青翘和老翘 2 种, 秋季果实初熟尚带绿色时采收, 除去杂质, 蒸熟, 晒干, 习称“青翘”, 目前临床多习惯用老翘, 对青翘的研究较少。有文献报道青翘中的主要有效成分连翘酯苷、连翘苷、芸香苷以及抗菌活性均高于老翘<sup>[2-4]</sup>。近来有文献报道利用水蒸气蒸馏法以及超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术对陕西洛南

[收稿日期] 20100723(005)

[通讯作者] \* 邓超澄, 学士, 讲师, 主要从事中药化学成分及质量标准研究, Tel: 13977197531, E-mail: mnhouyucheng@163.com