

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

王晓燕, 朱宝珠

(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

[摘要] 目的: 建立脑脉舒康胶囊中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 的 HPLC 含量测定方法。方法: 采用 Hypersil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 检测波长为 203 nm。结果: 人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 进样量分别在 0.210 ~1.680 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 96$), 0.522 ~4.176 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 98$), 1.092 ~7.644 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$) 呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 97.01%, 97.88%, 96.19%, RSD 分别为 2.42%, 1.48%, 1.67%。结论: 方法简便可行, 重复性好, 结果准确可靠, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 脑脉舒康胶囊; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0056-03

Determination of Ginsenoside Rg₁, Ginsenoside Re and Ginsenoside Rb₁ in Naomai Shukang Capsule by HPLC

WANG Xiao-yan, ZHU Bao-zhu

(Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

[Abstract] Objective: To establish an HPLC method for ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ in Naomai Shukang Capsule. **Method:** An Hypersil-C₁₈ column (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was composed of acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid (B) in gradient mode. The detection wavelength was 203 nm. **Result:** Ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ showed good linear relationship in the range of 0.210-1.680 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 96$), 0.522-4.176 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 98$), 1.092-7.644 mg·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$) respectively. The average recoveries of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and ginsenoside Rb₁ were 97.01% (RSD 2.42%, $n=5$), 97.88% (RSD 1.48%, $n=5$), 96.19% (RSD 1.67%, $n=5$) respectively. **Conclusion:** The method was accurate reliable, and specific, can be used for the quality control of Naomai Shukang Capsule.

[Key words] Naomai Shukang Capsule; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Re; HPLC

脑脉舒康胶囊为中药复方制剂, 由西洋参、五味子、山楂、葛根、地黄、何首乌等 6 味药组成。西洋参为方中君药, 本试验确定以西洋参中的主要有效成分人参皂苷 Rg₁, Re 和 Rb₁ 作为脑脉舒康胶囊的质量控制指标, 参考《中国药典》2005 年版方法^[1], 建

立本品中人参皂苷 Rg₁, Re 和 Rb₁ 的 HPLC 含量测定方法。并进行了一系列方法学考察。

1 仪器与试药

Waters2690 高效液相色谱仪, Waters996 二级管阵列检测器, M³² 色谱工作站。

人参皂苷 Rg₁ 对照品(批号 110703-200323), 人参皂苷 Re 对照品(批号 110754-200320), 人参皂苷 Rb₁ 对照品(批号 110704-200318) 均为含量测定用, 由中国药品生物制品检定所提供。脑脉舒康胶囊由

[收稿日期] 20100513(006)

[第一作者] 王晓燕, 硕士, 研究方向中药质量分析, Tel: 0371-63388283; E-mail: niuniuwxy@sina.com

河南中医学院第一附属医院制剂室提供。乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 其他为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件选择 色谱柱大连依利特 Hypersil C₁₈ 分析柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相以乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B) 体系, 梯度洗脱程序为 20 80(0 ~ 30 min) 55 45(40 min) 20 80(50 min) 来检测人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re; 以乙腈-0.1% 磷酸(30 70) 为流动相, 检测人参皂苷 Rb₁; 检测波长 203 nm。在此色谱条件下, 取混合对照品溶液、阴性样品溶液和样品溶液分别进样, 记录色谱图, 见图 1 ~ 6。结果表明, 样品中缺西洋参以外的成分对含量测定无干扰。分离度均大于 1.5, 理论塔板数均不低于 5 000。

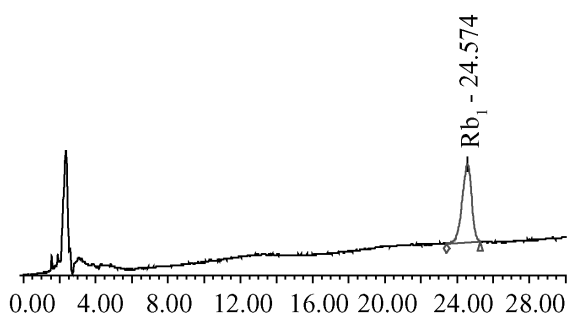


图 1 人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 HPLC 图

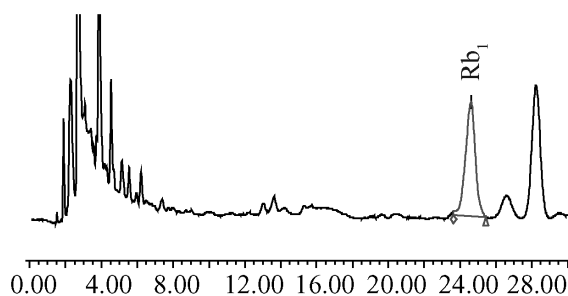


图 2 供试品溶液 HPLC 图

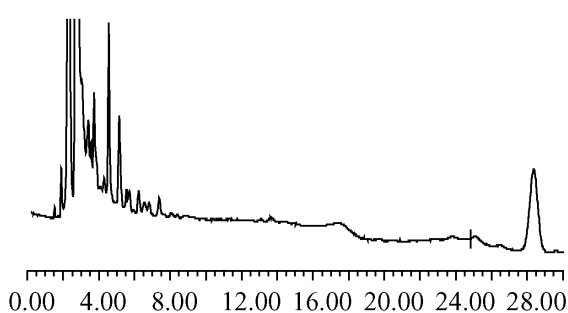


图 3 阴性样品溶液 HPLC 图

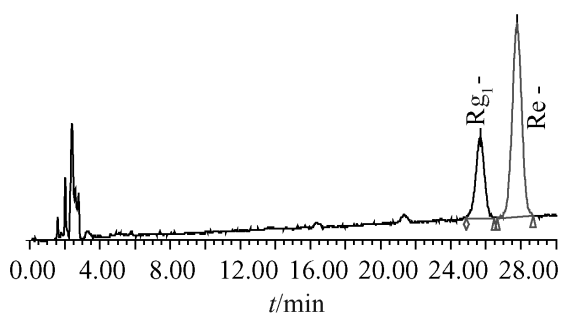


图 4 人参皂苷 Re, Rg₁ 对照品溶液 HPLC 图

2.2 试验溶液的制备

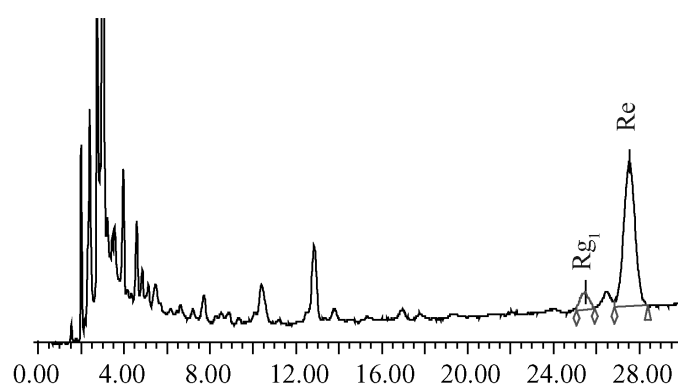


图 5 供试品溶液 HPLC 图

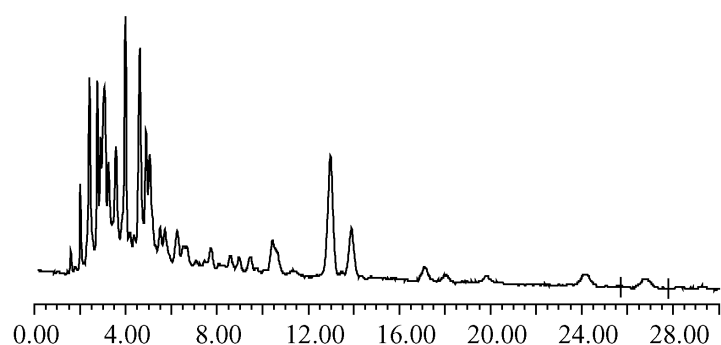


图 6 阴性样品溶液 HPLC 图

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品、人参皂苷 Re 对照品和人参皂苷 Rb₁ 对照品各适量, 加甲醇制成 0.02 g · L⁻¹ 含 0.15 g · L⁻¹ 人参皂苷 Rg₁, 0.02 g · L⁻¹ 人参皂苷 Re 和 0.5 g · L⁻¹ 人参皂苷 Rb₁ 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品内容物, 研细, 取约 2 g, 精密称定。置索氏提取器中, 加氯仿适量, 加热回流 3 h, 弃去氯仿液, 药渣挥去氯仿, 连同滤纸筒移入具塞锥形瓶中, 精密加入水饱和的正丁醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 用水饱和正丁醇补足减失的质量, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 置分液漏斗中, 加氨试液洗涤 2 次, 每次 25 mL, 分取正丁醇层, 水浴蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 并移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 取除西洋参外根据处方量及其工艺制得的样品约 2 g, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法, 制备阴性样品溶液, 即得。

2.3 线性关系考察 分别取对照品溶液人参皂苷 Rg₁ (0.150 5 g · L⁻¹), 人参皂苷 Re (0.026 1 g · L⁻¹), 人参皂苷 Rb₁ (0.546 g · L⁻¹) 进样, 进样量分别为 2, 4, 7, 10, 13, 16 μL, 按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 以进样量(μg) 为横坐标, 以峰面积积分为纵坐标进行回归处理, 得回归方程分别为人参皂苷 Rg₁ $Y = 3.05 \times 10^{-6} X - 5.16 \times 10^{-3}$, $r = 0.999 96$; 人参皂苷 Re $Y = 3.36 \times 10^{-6} X - 1.32 \times 10^{-2}$, $r = 0.999 98$; 人参皂苷 Rb₁ $Y = 2.23 \times 10^5 X + 1 249.87$, $r = 0.999 9$ 。

结果表明人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 进样量分别在 0.210 ~ 1.680 μg , 0.522 ~ 4.176 μg , 1.092 ~ 7.644 μg 呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取 2.3 项下对照品溶液, 相同条件下重复进样 5 次, RSD 分别为 0.58%, 0.42% 和 0.33%。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 放置 0, 2, 5, 10, 24 h 后按上述色谱条件进行分析。结果人参皂苷 Rg_1 , 人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的 RSD 分别为 0.81%, 0.43%, 1.43%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批号的样品(批号 090815) 5 份, 按样品含量测定方法测定, 结果人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb_1 的总含量平均值为 3.602 mg/粒, RSD 为 1.56%, 说明该方法重复性较好。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号 090815) 1 g, 共 5 份, 精密加入人参皂苷 Rg_1 , 人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 对照品溶液适量, 按样品含量测定项下方法制备样品溶液, 按上述色谱条件下进行测定, 计算回收率。结果人参皂苷 Rg_1 , 人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的平均回收率($n=5$) 分别为 97.01%, 97.88%, 96.19%; RSD 分别为 2.42%, 1.48%, 1.67%。说明该方法准确可靠。

2.8 样品测定 取 3 批样品, 按正文含量测定项下方法制得供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 计算其人参皂苷 Rg_1 , 人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 的总含量, 结果 3 批含量分别为 3.66, 3.46, 3.60 mg/粒。

3 讨论

对西洋参皂苷成分流动相的研究文献有很多报道, 其中梯度洗脱^[2-5] 在最近几年中占了很大比重, 也有针对不同的皂苷成分采用不同的流动相系统的报道^[6-7]。脑脉舒康胶囊含成分较多, 由于杂质的干扰, 用药典项下流动相对色谱仪和柱子要求较高, 经反复试验, 采用了不同的流动相系统分别检测 3 种成分, 即以乙腈-0.1% 磷酸溶液进行梯度洗脱, 检

测人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re; 以乙腈-0.1% 磷酸溶液(30 70) 为流动相, 检测人参皂苷 Rb_1 。

提取方法分别考察了正丁醇提取和经氯仿除杂后正丁醇提取^[8], 结果显示未经除杂提取后杂质较多, 色谱峰分离效果不好, 含量误差较大。对加热回流提取和放置过夜后超声提取进行考察, 结果表明提取效果相当。对氯仿除杂时间和正丁醇加热回流时间分别在 4 h 内进行考察, 综合以上考察最终得到最优化的提取方法为采用氯仿回流 3 h 去除杂质, 后用水饱和正丁醇加热回流 1 h。

对人参皂苷 Rg_1 , 人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb_1 色谱峰进行光谱扫描, 对照品与供试品色谱吸收峰基本一致, 故选用 203 nm 为测定波长(与药典一致), 系统适应性试验符合《中国药典》规定。

[参考文献]

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005: 87.
- [2] 张崇禧, 鲍建才, 李向高, 等. HPLC 法测定人参、西洋参和三七不同部位中人参皂苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(10): 1190.
- [3] 杨立伟, 郑传奇, 蒋忠军, 等. 超高效液相色谱法测定西洋参中人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 的含量[J]. 中药材, 2008, 31(1): 55.
- [4] 易延逵, 邓虹珠, 李跃辉, 等. 高效液相色谱法测定双参龙胶囊中人参皂苷 Re 含量的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 987.
- [5] 赵德华, 杨德智. HPLC 测定田七痛经胶囊中人参皂苷 Rb_1 、 Rg_1 的含量[J]. 中成药, 2005, 27(5): 532.
- [6] 李霄, 石任兵, 刘斌, 等. RP-HPLC 法测定清脑宣窍方有效部位中人参皂苷 Rg_1 及 Rb_1 含量[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(1): 59.
- [7] 王旭, 邬国庆, 张小茜. HPLC 法测定进口西洋参中人参皂苷 Rb_1 、Re、 Rg_1 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(6): 29.
- [8] 苏健, 李海舟, 杨崇仁. 吉林产西洋参的皂苷成分研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 833.

[责任编辑 顾雪竹]