

HPLC 测定益心舒胶囊中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的含量

杜佳新^{1*}, 顾玉红², 李萌²

(1. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 哈尔滨 150081; 2. 哈尔滨医科大学附属第三医院, 哈尔滨 150001)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定益心舒胶囊中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的方法。方法: 色谱柱 Diamond C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水梯度洗脱; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 203 nm; 柱温为 30 °C; 进样量 10 μL。结果: 人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 分别在 2.04 ~ 12.38 μg, 0.295 ~ 1.768 μg, 1.69 ~ 10.51 μg 呈良好的线性关系, 三者平均加样回收率分别为 96.77% (RSD 1.01%), 96.84% (RSD 0.95%), 97.26% (RSD 0.87%)。结论: 本方法灵敏、简便、准确, 可用于益心舒胶囊的质量控制。

[关键词] 益心舒胶囊; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0088-03

益心舒胶囊主要由人参、麦冬、五味子、黄芪、丹参、川芎、山楂 7 味中药材组成, 功效为益气复脉, 活血化瘀, 养阴生津。用于气阴两虚, 心悸脉结代, 胸闷不舒、胸痛及冠心病心绞痛见有上述症状者^[1], 目前已广泛应用于临床, 主治冠心病心绞痛。人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁, 是方中人参的主要有效成分, 为控制该药品的质量, 保证疗效, 对人参中的皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 进行含量测定。作者参照 2005 年版《中国药典》(一部)“人参”项下含量测定条件^[2], 对试验条件比较优化, 采用高效液相色谱法用于测定益心舒胶囊中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的含量。

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪, 515 型泵, 柱温箱, 2996 光电二极管矩阵检测器 (PAD), Empower 中文色谱工作站 (美国); SK2510HP 超声波提取器 (上海科导超声仪器公司); CP225D 电子分析天平 (Sartorius, 德国); 数显恒温水浴锅 HH-4 (常州国华电器有限公司)。

1.2 试药 人参皂苷 Rg₁ 对照品, 人参皂苷 Re 对照品, 人参皂苷 Rb₁ 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110703-200424, 110754-200320, 110765-200205)。益心舒胶囊 (贵州信邦制药股份有限公司, 批号 20080102, 规格 0.4 g/粒)。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Diamond C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相以乙腈为流动相 A, 以水为流动相 B, 按表 1 中的程序进行梯度洗脱; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 203 nm; 柱温为 30 °C; 进样量 10 μL。理论板数按人参皂苷 Rg₁ 峰计算应不低于 6 000。见表 1。

表 1 益心舒胶囊梯度洗脱表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 35	19	81
35 ~ 55	19→29	81→71
55 ~ 70	29	71
70 ~ 100	29→40	71→60

2.2 溶液制备

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, 人参皂苷 Rb₁ 对照品, 加甲醇制成分别为 0.2 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 除去益心舒胶囊外壳, 取其内容物粉末 (过三号筛) 约 10 g, 精密称定, 置索氏提取器中加三氯甲烷加热回流 3 h, 弃去三氯甲烷液, 药渣挥干溶剂, 连同滤纸筒移入 100 mL 锥形瓶中, 精密加入水饱和的正丁醇 50 mL, 密塞, 放置过夜, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 25 mL, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 有机滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

[收稿日期] 2010-02-26

[通讯作者] * 杜佳新, Tel: 13945660856, E-mail: hong81885@sohu.com

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 取除人参以外的处方中其余药材,按比例和其工艺配不含人参的空白制剂,再按 2.2.2 项下方法,制成阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 在上述色谱条件下,分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,测定并记录色谱图,图 1。

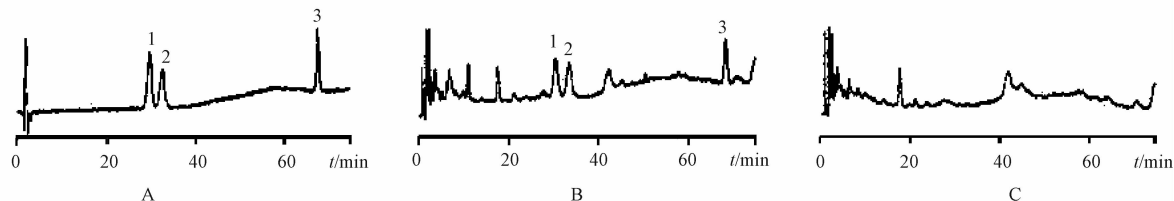


图 1 益心舒胶囊高效液相色谱

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 人参皂苷 Rg_1 ; 2. 人参皂苷 Re ; 3. 人参皂苷 Rb_1

2.4 线性关系考察 分别精密量取人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rb_1 对照品溶液,其浓度分别为 $(0.253, 0.226, 0.237 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1})$ 分别进样 2, 4, 6, 8, 10 μL ,测得峰面积并记录。以对照品进样量(X)为横坐标,峰面积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。测得人参皂苷 Rg_1 的回归方程为 $Y = 289.59X + 33.504, r = 0.9999$,人参皂苷 Re 回归方程为 $Y = 242.19X + 2.5597, r = 0.9999$,人参皂苷 Rb_1 回归方程为 $Y = 231.98X + 26.73, r = 0.9999$;结果表明人参皂苷 $\text{Rg}_1, \text{Re}, \text{Rb}_1$ 分别在 $2.04 \sim 12.36 \mu\text{g}, 0.295 \sim 1.768 \mu\text{g}, 1.76 \sim 10.56 \mu\text{g}$ 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液 10 μL ,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次,测定峰面积。人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rb_1 的峰面积相对标准偏差 RSD 分别为 1.5%, 1.4%, 1.7%,均小于 2%,说明精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号的益心舒胶囊内容物,共 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,并按 2.1 项下进样测定。结果人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rb_1 平均含量的 RSD 为 1.1%, 1.7%, 1.2%,表明方法重现性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL ,按 2.1 项下分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定,共测定 6 次。人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rb_1 的峰面积相对标准偏差 RSD 分别为 1.6%, 1.9%, 1.7%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取益心舒胶囊内容物约 0.2 g,各 6 份,分别精密加入人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Re 、人参皂苷 Rb_1 对照品适量,按上述供试品溶液制备方法和色谱条件测定峰面积积分值,计算加样回收率,见表 2。

表 2 人参皂苷 $\text{Rg}_1, \text{Re}, \text{Rb}_1$ 加样回收率试验 ($n = 6$)

成分	No.	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
人参皂苷 Rg_1	1	0.236 2	0.208 5	0.435 0	97.82	96.77	1.01
	2	0.211 1	0.206 4	0.403 2	96.57		
	3	0.214 5	0.212 7	0.410 6	96.11		
	4	0.206 6	0.207 4	0.406 5	98.12		
	5	0.212 4	0.206 8	0.401 3	95.73		
	6	0.209 6	0.211 3	0.405 2	96.27		
人参皂苷 Re	1	0.221 6	0.210 1	0.415 2	96.18	96.84	0.95
	2	0.209 2	0.207 4	0.399 2	95.82		
	3	0.212 5	0.211 5	0.411 6	97.08		
	4	0.209 2	0.210 3	0.405 4	96.64		
	5	0.223 8	0.211 5	0.421 7	96.88		
	6	0.213 4	0.208 2	0.415 1	98.46		
人参皂苷 Rb_1	1	0.217 2	0.209 4	0.414 7	97.21	97.26	0.87
	2	0.213 4	0.210 1	0.410 3	96.89		
	3	0.208 7	0.207 2	0.405 4	97.48		
	4	0.207 3	0.205 8	0.407 7	98.70		
	5	0.213 6	0.208 4	0.405 6	96.11		
	6	0.221 8	0.217 9	0.427 3	97.18		

2.9 样品含量测定 分别精密吸取供试品溶液 10 μL ,按上述色谱条件测定,计算人参皂苷 $\text{Rg}_1, \text{Re}, \text{Rb}_1$ 含量,测定结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果 ($n = 3$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	人参皂苷 Rg_1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb_1
1	0.254 1	0.197 4	0.294 7
2	0.249 2	0.204 3	0.289 2
3	0.247 8	0.210 6	0.291 3

由上表可见人参皂苷 Rg_1 的含量为 $0.2504 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、人参皂苷 Re 的含量为 $0.2041 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、人参皂苷 Rb_1 的含量为 $0.2917 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

以乙腈-水为流动相,其分离效果和重现性好,且可有效排除其他组分的干扰。采用梯度洗脱方法分离并测定人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 3 种成分时,分析时间较长,一般需要 100 min。

由于益心舒胶囊为中药复方制剂,成分较复杂,故样品在通过滤纸筒后再用正丁醇萃取,能较好地排除其他成分的干扰。

供试品溶液制备方法的选择与确定分别对提取溶剂(2% 氢氧化钾甲醇溶液)、提取方法(加热回流 1 h、超声处理 1 h、超声处理 1 h、浸泡过夜后加热回流 1 h)、提取溶剂用量(25, 50, 75 mL)进行了考察,最终确定以正丁醇 50 mL 浸泡过夜,加热回流 3 h,加水饱正丁醇 50 mL,放置过夜,超声处理 30 min 作

为最佳提取方式。结果表明本试验供试品提取方法采用超声提取和加热回流共同提取,其提取率较高。

试验结果表明采用高效液相色谱法测定益心舒胶囊中人参皂苷 R_{g_1} , Re , Rb_1 含量能准确反映该药的质量。本方法灵敏度高,简便,准确,可用于益心舒胶囊的质量控制。

[参考文献]

- [1] 许乾丽,茅向军,熊慧林. HPLC 测定益心舒胶囊中人参皂苷 R_{g_1} , Re 的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(18):1462.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005:7.

[责任编辑 顾雪竹]

关于本刊变更为半月刊的重要通知

尊敬的作者、读者:

由于本刊近来投稿量不断增加,杂志影响力不断扩大,每月一刊的出版周期已无法满足广大科研工作者的投稿及发表需求。经过编辑部研究,主办单位中国中医科学院中药研究所及中国中西医结合学会中药专业委员会、主管单位国家中医药管理局及北京市新闻出版管理局的批准,本刊自 2010 年 7 月变更为半月刊。半月刊后本刊发文量将大大提高,发表周期将进一步缩短,为作者和读者的服务水平也将不断提升。欢迎广大作者、读者、审稿专家及编委会专家继续关注本刊发展!

由于刊期变更,作者已被录用的待发表稿件的原定刊发“月份”维持不变,但是因每月分为 2 期,需要明确具体期号的作者请及时与各栏目责任编辑联系,联系方式见本刊网站“联系我们”,由此给您带来的不便请您谅解!

栏目/岗位	责任编辑	电话(010)	手机	邮箱	QQ
综述,专论,学术探讨;资源鉴定、代谢、毒理、药事管理	蓝海	84076882	13683362408	178562955@ qq. com	630731124 178562955
制剂	全燕	84027721	13693506677	791489912@ qq. com	791489912
质量控制、化学成分	顾雪竹	84076882	13601383260	guxuezhu@ gmail. com	14182115
药理	聂淑琴		13520980068	nieshuqin@ sina. com	
临床	小安		13811016479	zou-ak48@ 163. com	65029229
费用查询,发票,稿费,杂志邮寄等	何希荣	84076882		syfjx_2010@ 188. com	840155934