

HPLC 测定生血复元口服液中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量

娄玉霞¹, 李向阳², 李振国^{2*}

(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450003; 2. 河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450003)

[摘要] 目的: 建立生血复元口服液中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的高效液相含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定, 安捷伦 ODS C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-甲醇-水梯度洗脱, 检测波长 203 nm。结果: 人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的线性范围分别为 0.041 05 ~ 0.205 25 mg · mL⁻¹ (r = 0.999 7)、0.063 05 ~ 0.315 25 mg · mL⁻¹ (r = 0.999 4), 人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的平均回收率分别为 96.59% (RSD = 0.99%, n = 5)、96.43% (RSD = 0.95%, n = 5)。结论: 方法准确可靠, 专属性强, 可用于控制生血复元口服液中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的质量。

[关键词] 生血复元口服液; 高效液相色谱法; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0051-03

生血复元口服液由人参、白术、当归、陈皮、金银花等中药组成, 具有补养气血、清热解毒的作用, 主要用于气血两虚证引起的倦怠乏力, 少气懒言, 气短汗出, 心悸失眠, 食欲不振, 头晕目眩等症的治疗。人参为方中重要药物, 同时也是贵重药材, 因此以人参中的人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 为指标进行含量测定。人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量测定方法主要有 UV 法^[1]、TLCS^[2] 及 HPLC 法^[3] 等。本文参考中国药典 2005 年版一部人参药材项下的含量测定方法^[4], 采用 HPLC 方法测定了生血复元口服液中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量, 为该药品的质量控制提供评价方法。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪 (2695 系统控制单元, 2996 二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站)。AE 240 电子分析天平 (瑞士 METTLER)。

生血复元口服液 (批号: 081118、081125 和 090109) 由河南百泉制药有限公司提供; 人参皂苷 Rg₁ (批号 110703-220424)、人参皂苷 Re (批号 110754-200320) 均为含量测定用对照品, 由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇、乙醇、乙腈为色谱纯,

其余试剂为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent C₁₈ 柱 (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, 以甲醇为流动相 C, 按表 1 进行梯度洗脱; 柱温: 25 °C; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 203 nm; 进样量: 10 μL。理论板数按人参皂苷 Rg₁ 计算不低于 3 000。

表 1 梯度洗脱程序 (%)

时间 min	流动相 A	流动相 B	流动相 C
0 ~35	19	81	0
35 ~45	19 24	81 76	0
45 ~46	24 0	76 0	0 100
46 ~55	0	0	100
55 ~56	0 19	0 81	100 0
56 ~65	19	81	0

2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品 8.21 mg、人参皂苷 Re 对照品 12.61 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液 (人参皂苷 Rg₁ 0.082 1 mg · mL⁻¹, 人参皂苷 Re 0.126 1 mg · mL⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 精密吸取生血复元口服液 25 mL, 用水饱和的正丁醇振摇提取 5 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液 40 mL 洗涤 2 次, 弃去氨液, 分取正丁醇液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇适量使

[收稿日期] 2009-06-05

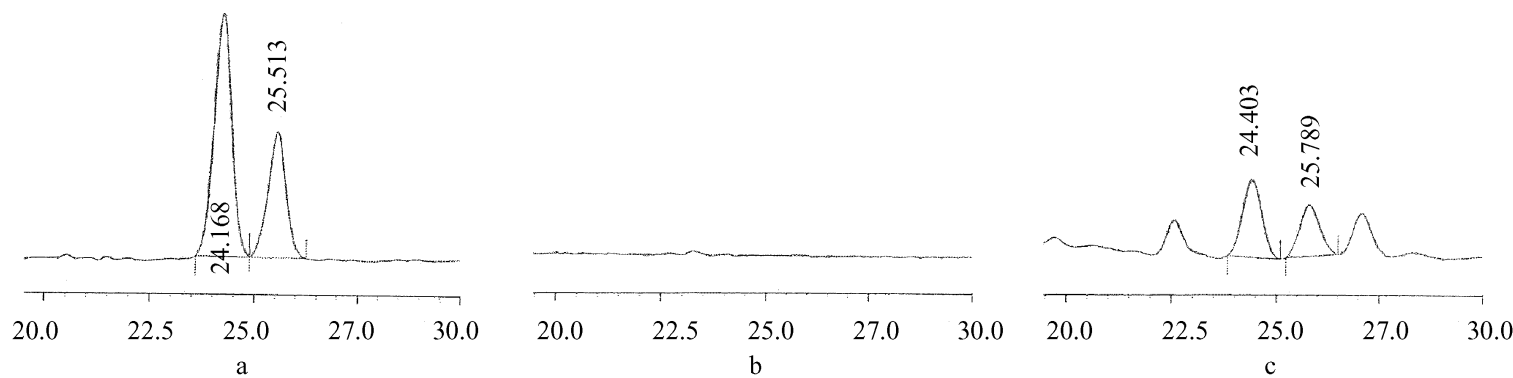
[通讯作者] * 李振国, Tel: (037) 6388168; E-mail: hnyj1111@yahoo.com.cn

溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察 精密吸取人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 对照品混合溶液, 注入液相色谱仪, 分别进样 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 进行回归计算, 得人参皂苷 Rg₁ 在 0.04105 ~ 0.20525 mg · mL⁻¹ 线性方程 $Y = 3.30 \times 10^6 X - 5.09 \times 10^4$ ($r = 0.9997$), 人参皂苷 Re 0.06305 ~

0.31525 mg · mL⁻¹ 线性方程 $Y = 2.66 \times 10^6 X - 2.24 \times 10^4$ ($r = 0.9994$)。

2.5 阴性干扰试验 按处方比例和工艺制成缺人参阴性对照药, 照“2.3”项下方法制备缺人参阴性对照品溶液, 精密吸取该溶液 10 μL, 进样测定, 结果阴性对照品液在与人参皂苷 Rg₁ 对照品和人参皂苷 Re 对照品相对应的保留时间位置上未见有吸收峰, 说明本品中除人参外的其他药物对含量测定无干扰, 见图 1。



a 人参皂苷 Rg₁ (前) 和人参皂苷 Re (后) 混合对照品; b. 缺人参阴性对照品; c. 供试品

图 1 人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量测定 HPLC 色谱图

2.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 重复进样 6 次, 结果人参皂苷 Rg₁ 峰面积的 RSD 值为 0.7%, 人参皂苷 Re 峰面积的 RSD 值 1.0%。

2.7 稳定性试验 取批号为 081118 的生血复元口服液, 按“2.3”项下方法操作, 制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 按上述色谱条件进行测定, 并计算人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 峰面积的 RSD 值, 结果人参皂苷 Rg₁ 的 RSD 0.87%, 人参皂苷 Re 的 RSD 0.54%。

2.8 重复性试验 取批号为 081118 的生血复元口服液, 制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件分别进样测定人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的含量, 结果人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的 RSD 分别为 2.08% 和 1.25%。

2.9 加样回收率试验 精密吸取已知含量的生血复元口服液(批号 081118) 5 份, 每份 15 mL, 精密加入人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 对照品混合溶液(人参皂苷 Rg₁ 浓度为 0.041051 mg · mL⁻¹, 人参皂苷 Re 浓度为 0.06305 mg · mL⁻¹) 15 mL, 混匀, 精密吸取 25 mL, 按“2.3”项下方法操作, 制备加样回收供试品溶液, 照上述色谱条件测定, 测得人参皂苷 Rg₁ 的平均回收率为 96.59%, RSD% 为 0.99%; 人参皂苷 Re 的平均回收率为 96.43%, RSD% 为 0.95%。见表 2。

表 2 加样回收率测定

测定成分	取样量 (mL)	样品含量 (ng)	加入对照品量 (ng)	实测总量 (ng)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD% (%)
人参皂苷 Rg ₁	15.0	0.5787	0.6158	1.1759	96.98		
	15.0	0.5787	0.6158	1.1683	95.74		
	15.0	0.5787	0.6158	1.1812	97.84	96.59	0.99
	15.0	0.5787	0.6158	1.1752	96.87		
	15.0	0.5787	0.6158	1.1670	95.53		
人参皂苷 Re	15.0	0.7537	0.9458	1.6605	96.51		
	15.0	0.7537	0.9458	1.6637	96.21		
	15.0	0.7537	0.9458	1.6773	97.65	96.43	0.95
	15.0	0.7537	0.9458	1.6681	96.68		
	15.0	0.7537	0.9458	1.6533	95.11		

2.10 样品测定 取不同批号的 3 批生血复元口服液样品, 按“2.3”项下方法操作, 制备供试品溶液, 并按上述色谱条件进行测定, 结果见表 3。

3 讨论

人参为本品中的主药材, 为保证临床用药的安全有效性, 应对其有效成分含量进行控制。在试验中, 曾对本品中的人参皂苷 Re、Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁ 同时进行含量测定研究, 由于生血复元口服液中以