

HPLC 法测定进口西洋参中人参皂苷 Rb1 Re Rg1 的含量

王 旭, 邬国庆, 张小茜
(北京市药品检验所, 北京 100035)

摘要: 目的: 修订进口西洋参质量标准。方法: 采用 HPLC 法, 用 C_{18} 柱为固定相, 以乙腈-水(30:70)和乙腈-0.05% 磷酸溶液(99:400)为流动相, 柱温 40℃, 检测波长 203nm。分别测定人参皂苷 Rb1、Re 和 Rg1 的含量。结果: 人参皂苷 Rb1 在 1.647~8.235 μ g($r=0.9995$)、人参皂苷 Rg1 在 0.1653~1.983 μ g($r=0.9998$)、人参皂苷 Re 在 1.126~9.008 μ g($r=0.9999$) 范围内呈良好线性关系。加样回收率人参皂苷 Rb1 为 100.2% (RSD 为 3.26%)、人参皂苷 Rg1 为 97.61% (RSD 为 1.23%)、人参皂苷 Re 为 100.4% (RSD 为 1.21%)。结论: 该含量测定方法简便准确, 重复性好, 可用于控制进口西洋参的质量。

关键词: 进口西洋参; HPLC; 人参皂苷 Rb1、Re、Rg1

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)06-0027-03

西洋参始载于《药性通考(1849)》。为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的根。进口西洋参活性成分为人参皂苷。按原进口质量标准采用重量法, 不能对单一皂苷类成分进行测定, 2000 版《药典》采用 HPLC 法测定人参皂苷 Rb1 含量^[1,2]。为了更好地控制药品质量, 本文选择通常用的 C_{18} 柱和紫外检测器, 选择人参皂苷 Rb1、Rg1、Re 三个检测指标, 对不同产地 9 批样品进行了测定, 结果表明本方法操作简便灵敏, 重复性好。

1 仪器、试剂与样品

高效液相色谱仪, 惠普 1100 及岛津 LC-10A CLASS-VP, 色谱柱 C_{18} (4.6mm \times 250mm), 纯水机 Milli-Q。

人参皂苷 Rb1、Rg1、Re(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 0707-9811、0703-9914、0754-9809) 乙腈, 色谱纯; 磷酸, 优级纯; 其他试剂均系分析纯。样品: 美国 1 号 2 号 3 号、加拿大 1 号 2 号 3 号由厦门药检所提供。大枝泡、120 泡 5~10g 粒头由同仁堂南洋药业提供, 产地美国。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 人参皂苷 Rb1 流动相, 乙腈-水(30:70), 人参皂苷 Rg1 与人参皂苷 Re 流动相, 乙腈-0.05% 磷酸溶液(99:400), 柱温 40℃, 检测波长 203nm, 层析柱理论板数分别不低于 4000; 3000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rb1、Rg1、Re 对照品, 分别加甲醇制成每 1mL 中含 1mg、33 μ g、0.2mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉约 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 1.5h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 25mL, 置蒸发皿中, 蒸干, 残渣以水饱和正丁醇 50mL, 分次转移至分液漏斗中, 加氨试液振摇提取 2 次, 每次 5mL, 弃去氨液, 正丁醇液用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 10mL, 弃去水液, 取正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解并定量转移至 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μ m) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。测定结果见表 1, 色谱图见图 1~4。

根据以上数据, 限度暂订为本品含人参皂苷 Rb1 不得少于 1.2%。含人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Re 的总量不得少于 0.8%。

2.5 线性关系的考察 精密量取人参皂苷 Rb1 对照品溶液(1.647mg/mL) 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL, 分别置 1mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 5 μ L 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 结果人参皂苷 Rb1 在 1.647~8.235 μ g 范围内呈良好线性关系。其回归方程为 $Y=244.8X+70.8$, 相关系数 $r=0.9995$ 。

表 1 样品测定结果

编号	样品来源	人参皂苷 Rb1 含量	人参皂苷 Rg1 含量	人参皂苷 Re 含量	Rg1 与 Re 的总量
1	美国 1 号	2.38	0.1214	1.1358	1.2572
2	美国 2 号	3.15	0.1247	1.0847	1.2094
3	美国 3 号	2.28	0.0688	0.8362	0.9050
4	加拿大 1 号	2.12	0.2336	1.4568	1.6904
5	加拿大 2 号	1.94	0.0300	0.6251	0.6551
6	加拿大 3 号	2.41	0.2566	1.5374	1.7940
7	大枝泡	1.68	0.0550	0.9034	0.9584
8	5~10g 粒头	1.23	0.0852	1.4203	1.5055
9	120 泡	3.71	0.1264	1.2443	1.3707

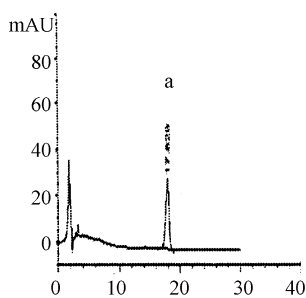


图 1 人参皂苷 Rb1 对照品色谱图

a: 人参皂苷 Rb1 b: 人参皂苷 Rg1 c: 人参皂苷 Re

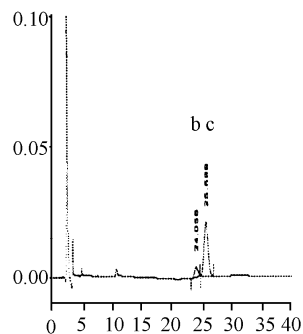


图 3 人参皂苷 Rg1 Re 对照品色谱图

a: 人参皂苷 Rb1 b: 人参皂苷 Rg1 c: 人参皂苷 Re

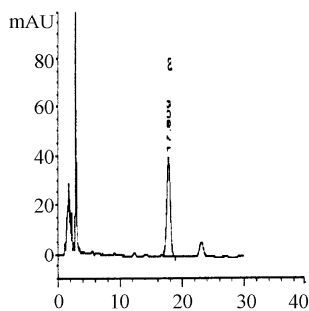


图 2 西洋参中人参皂苷 Rb1 色谱图

a: 人参皂苷 Rb1 b: 人参皂苷 Rg1 c: 人参皂苷 Re

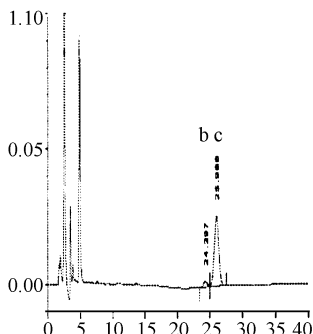


图 4 西洋参中人参皂苷 Rg1 Re 色谱图

a: 人参皂苷 Rb1 b: 人参皂苷 Rg1 c: 人参皂苷 Re

精密量取人参皂苷 Rg1 对照品溶液 (0.661mg/mL) 0.25、0.5、1.2、3mL, 与人参皂苷 Re 对照品溶液 (1.126mg/mL) 1.2、4.6、8mL, 分别置 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 10μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 结果表明, 人参皂苷 Rg1 在 0.1653~1.983μg、人参皂苷 Re 在 1.126~9.008μg 范围内呈良好线性关系。人参皂苷 Rg1 回归方程为 $Y = 461597.33X - 5804.99$, 相关系数 $r = 0.9998$, 人参皂苷 Re 回归方程为 $Y = 390225X - 21263.5$, 相关系

数 $r = 0.9999$ 。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 进样 10μL, 分别于配制后不同时间依法测定人参皂苷 Rb1、Rg1 和 Re, 结果表明, 供试品溶液分别在配置后 14h 内和 24h 内基本稳定。相对标准偏差分别为 0.68%、1.96% 和 1.39%。

2.7 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10μL, 重复进样 5 次, 结果人参皂苷 Rb1 RSD 为 0.61%、人参皂苷 Rg1 RSD 为 1.66%、人参皂苷 Re RSD 为 0.64%。

2.8 重复性试验 取同一编号样品 5 份, 按供试品溶液的制备方法制备、测定, 进样 10μL。结果人参皂苷 Rb1 RSD 为 2.71%、人参皂苷 Rg1 RSD 为 1.82%、人参皂苷 Re RSD 为 0.68%。

2.9 人参皂苷 Rb1 回收率试验 精密称取已知含量的西洋参药材粉末 0.15g, 分别精密加入人参皂苷 Rb1 对照品 (0.00974mg/mL) 40mL, 称定重量, 置水浴上回流提取 1.5h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20mL, 置蒸发皿中, 蒸干, 残渣加水饱和和正丁醇 50mL 分次转移至分液漏斗中, 加氨试液振摇提取 2 次, 每次 5mL, 弃去氨液, 再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 10mL, 弃去水液。取正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇定量转移至 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 取续滤液按上述色谱条件测定, 结果见表 2。

表 2 人参皂苷 Rb1 回收率试验

编号	取样量 (g)	样品 Rb1 含量 (mg)	测得 Rb1 的量 (mg)	检出 Rb1 的量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.1593	5.018	9.108	4.090	104.98		
2	0.1481	4.665	8.501	3.836	98.46		
3	0.1589	5.005	9.031	4.026	103.34	100.6	3.26
4	0.1493	4.703	8.535	3.832	98.36		
5	0.1502	4.731	8.549	3.818	98.00		

注: 加入人参皂苷 Rb1 的量为 3.896(mg)

人参皂苷 Rg1 与 Re 回收率试验: 精密称取已知含量的西洋参药材粉末 0.25g, 分别精密加入人参皂苷 Rg1 对照品 (0.0141mg/mL) 25mL, 再加人参皂苷 Re 对照品溶液 (0.12432mg/mL) 25mL, 按供试品溶液的制备方法制备测定, 结果见表 3、4。

表 3 人参皂苷 Rg1 回收率试验

编 号	取 样 量 (g)	样品 Rg1 含量 (mg)	测得 Rg1 的量 (mg)	检出 Rg1 的量 (mg)	回 收 率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	0.2689	0.3353	0.6855	0.3502	99.35		
2	0.2597	0.3238	0.6990	0.3452	97.93		
3	0.2577	0.3214	0.6640	0.3426	97.19	97.61	1.23
4	0.2521	0.3144	0.6529	0.3385	96.03		
5	0.2540	0.3167	0.6606	0.3439	97.56		

注:加入人参皂苷 Rg1 的量为 0.3525(mg)

表 4 人参皂苷 Re 回收率试验

编 号	取 样 量 (g)	样品 Re 含量 (mg)	测得 Re 的量 (mg)	检出 Re 的量 (mg)	回 收 率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	0.2689	2.9168	5.9998	3.0830	99.20		
2	0.2597	2.8170	5.9245	3.1075	99.98		
3	0.2577	2.7953	5.9306	3.1353	100.88	100.4	1.21
4	0.2521	2.7345	5.8350	3.1005	99.76		
5	0.2540	2.7551	5.9348	3.1797	102.31		

注:加入人参皂苷 Re 的量为 3.1080(mg)

3 讨论

3.1 原进口质量标准采用正丁醇提取总皂苷的重量法测定,不能有针对性地对单一有效成分进行测定,对干扰成分如糖等采用加正丁醇饱和的水洗涤的方法除去,但由于皂苷类成分萃取时易乳化,操作中振摇力度和静置分层时间对结果均有影响,造成一定的误差。本方法有针对性地对三种单一皂苷类成分进行测定,结果更准确。

3.2 西洋参有效成分为人参皂苷,《中国药典》2000年版中引种栽培西洋参仅对单一有效成分人参皂苷 Rb1 进行含量测定,由于西洋参中人参皂苷 Rb1、Re Rg1 的含量分布与人参皂苷 Rb1 的含量高低并无明显的线性关系,因此,仅以人参皂苷 Rb1 一个指标代表西洋参的质量不够全面,有必要测定三个主要皂苷成分的含量。

参考文献:

- [1] 王旭,周富荣.HPLC 法测定西洋参中人参皂苷 Rb1 的含量[J]. 中国中药杂志,1999,24(4):227.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:化学工业出版社,2000. 一部,99.