

盐缓冲液[0.05 mol/L 庚烷磺酸钠-0.05mol/L 磷酸二氢钾(1:1),含 0.2%乙二胺,用磷酸调 pH 2.2、2.5、2.8、3.0、3.5、4.0]不同的比例和不同的梯度,结果以乙腈-磷酸盐缓冲液[0.05 mol/L 庚烷磺酸钠-0.05mol/L 磷酸二氢钾(1:1),含 0.2%乙二胺,用磷酸调 pH 3.0]按色谱条件的梯度运行洗脱最好,分离度、峰形和柱效均满意。

检测波长的选择:岩黄连注射液的成分比较多,已知的成分有脱氢卡维丁等。脱氢卡维丁在 230、270、347 nm 处有最大紫外吸收峰,其他成分分别在 205、233、240、270、285、290、347、355 nm 处

有最大紫外吸收峰。取注射液 10 μ L,注入液相色谱仪,采用二极管阵列检测器分别检测上述波长,结果以 285 nm 为检测波长检出的峰数较多,其分离度、峰形和柱效及出峰的稳定性较为满意,故选择 285 nm 为检测波长。

注射液的质量与药材、中间体提取物密切相关,特别是药材的质量,有关注射液与药材及其提取物中间体指纹图谱的相关性研究正在进行中。

Reference:

- [1] Ren Z X. Analysis on acupuncture with Yanhuanglian in treatment of 33 cases with virus hepatitis [J]. *Clin Focus* (临床荟萃), 2003, 18(2): 94.

HPLC 法测定参芪颗粒中人参皂苷 R_{g_1} 和 Re

孙 艳,张卫同,陈海滨,王羽凝,周晓兵

(解放军总医院 药品保障中心,北京 100853)

摘 要:目的 建立参芪颗粒中人参皂苷 R_{g_1} 、Re 的 HPLC 测定方法。方法 采用 HPLC 法,Chromasil C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm),乙腈-0.05%磷酸溶液(21:79)为流动相,体积流量 1 mL/min,检测波长:203 nm。结果 在 30 min 内能基线分离人参皂苷 R_{g_1} 和 Re,平均加样回收率分别为人参皂苷 R_{g_1} 99.60%,RSD 为 1.93%($n=5$);人参皂苷 Re 98.58%,RSD 为 2.31%($n=5$)。结论 所建立的方法可准确快速地进行定量检测,可用于参芪颗粒的质量控制。

关键词:参芪颗粒;人参皂苷 R_{g_1} ;人参皂苷 Re;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)07-1009-02

Determination of ginsenoside R_{g_1} and Re in Shenqi Granula by HPLC

SUN Yan, ZHANG Wei-tong, CHEN Hai-bin, WANG Yu-ning, ZHOU Xiao-bing

(Ensure Center of Drug, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for the determination of ginsenosides R_{g_1} and Re in Shenqi Granula. **Methods** Chromasil C_{18} column (250 mm $\times$ 4.6 mm) was used with acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (21:79) as mobile phase. The flow rate was 1 mL/min and the detected wavelength was 203 nm. **Results** Ginsenosides R_{g_1} and Re could be baseline separated with in 30 min. The average recovery rates were 99.60% and 98.5%, corresponding RSD were 1.93% and 2.31% for ginsenoside R_{g_1} and Re, respectively ($n=5$). **Conclusion** This method is fast and accurate and can be used for quality control of Shenqi Granula.

Key words: Shenqi Granula; ginsenoside R_{g_1} ; ginsenoside Re; HPLC

参芪颗粒是由人参、黄芪、制首乌等药材加工制备而成的制剂,具有免疫调节作用和抗疲劳作用。为了控制本品的质量,本实验采用 HPLC 法测定了人参皂苷 R_{g_1} 、Re。

1 实验材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(含 DAD 检测

器、柱温箱),BP110S 分析天平(德国 Sartorius 公司生产)。

人参皂苷 R_{g_1} 、Re 由中国药品生物制品检定所提供;乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。各药材购自北京同仁堂,参芪颗粒为本院自制制剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Chromasil C_{18} (250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-0.05%磷酸溶液(21:79);体积流量:1 mL/min;检测波长:203 nm。

2.2 供试品溶液的制备:取参芪颗粒样品 8.0 g,研细,精密称定,加入水饱和正丁醇 50 mL,称定质量,浸泡 1 h,超声提取 20 min,称定质量,以水饱和正丁醇补足失去的质量,摇匀,提取液 3 000 r/min 离心 15 min,精密量取上清液 25 mL,氨试液洗涤 2 次(30、20 mL),正丁醇液水浴上挥干溶剂。残渣置 2 mL 量瓶中,用流动相溶解并加至刻度,即得。

2.3 线性关系考察:精密称取人参皂苷 R_{g_1} 、Re 对照品适量,加甲醇制成含人参皂苷 R_{g_1} 0.50 mg/mL、Re 0.41 mg/mL 的混合对照品溶液。精密量取 1、2、4、6、8、10 μ L 进样,记录色谱图,测定峰面积。以人参皂苷进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,数据进行线性回归,得回归方程。人参皂苷 R_{g_1} : $Y=380.45 X+35.028, r=0.999 8$;人参皂苷 Re: $Y=295.47 X+31.431, r=0.999 6$ 。可见人参皂苷 R_{g_1} 在 0.50~5.00 μ g、人参皂苷 Re 在 0.41~4.10 μ g 与峰面积的线性关系良好。

2.4 阴性干扰试验:按照供试品溶液的制备方法制备缺人参的阴性对照溶液。取人参皂苷 R_{g_1} 、Re 对照品溶液、参芪颗粒供试品溶液和缺人参的阴性对照溶液,进样 10 μ L,得色谱图,见图 1。

结果人参皂苷 R_{g_1} 、Re 峰面积的 RSD 分别为 1.59%、2.34%。

2.6 稳定性试验:取供试品溶液(批号 030823)于 1、2、4、8、16、24 h 进样分析,每次 10 μ L,记录峰面积,结果人参皂苷 R_{g_1} 、Re 峰面积的 RSD 分别为 2.41%、2.56%。结果表明供试品溶液中人参皂苷 R_{g_1} 、Re 在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批(批号 030823)参芪颗粒样品 5 份,制备供试品溶液,进样 10 μ L,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g_1} 、Re 的质量分数分别为 60.09、40.23 μ g/g, RSD 分别为 2.59%、2.63%。

2.8 加样回收率试验:精密称取参芪颗粒(批号 021121)4.0 g,加入人参皂苷 R_{g_1} 、Re 混合对照品溶液 0.5 mL(其中含人参皂苷 R_{g_1} 、Re 分别约为 250、205 μ g),制备供试品溶液,进样 10 μ L 测定,结果人参皂苷 R_{g_1} 、Re 的平均回收率分别为 99.60%、98.58%, RSD 分别为 1.93%、2.31%($n=6$)。

2.9 样品测定:取参芪颗粒样品 5 批,制备供试品溶液,进样测定,以标准曲线法进行计算,结果见表 1。制定本品定量限度为含人参皂苷 R_{g_1} 不得少于 50 μ g/g、人参皂苷 Re 不得少于 30 μ g/g。

表 1 参芪颗粒中人参皂苷 R_{g_1} 和 Re 的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of ginsenoside R_{g_1} and Re in Shenqi Granula ($n=3$)

批号	人参皂苷 $R_{g_1}/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	人参皂苷 Re/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$
030218	60.51	41.63
030521	60.09	40.23
030823	62.64	41.39
031105	58.74	39.21
040207	58.51	39.07

3 讨论

供试品溶液的制备时,分别以甲醇、正丁醇、水饱和正丁醇、70%乙醇为提取溶剂,回流提取、超声提取、索氏提取,以人参皂苷 R_{g_1} 、Re 的量为指标进行比较。结果正丁醇的提取率较其他 3 种溶剂低,甲醇、乙醇提取则比较复杂,回收率不高,而以水饱和正丁醇直接提取,再用氨试液洗涤的方法简单快速,且加样回收率好。实验中采用氯仿脱脂,但是氯仿脱脂与否,对实验结果影响不大。氨试液洗涤对实验结果有很大影响,可明显减少杂质干扰。故确定本实验中供试品溶液的制备采用直接水饱和正丁醇提取,氨试液洗涤的方法。

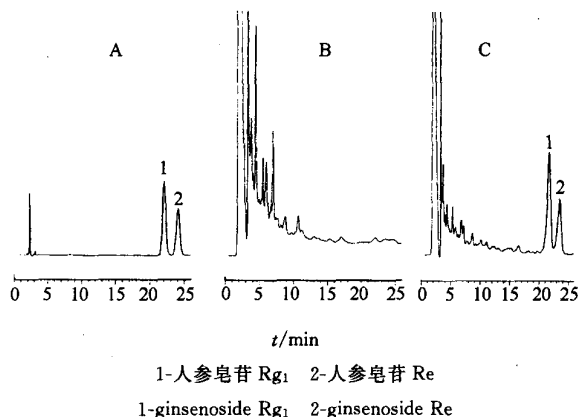


图 1 混合对照品溶液(A)、阴性溶液(B)和参芪颗粒(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), negative solution (B), and Shenqi Granula (C)

2.5 精密度试验:取参芪颗粒供试品溶液(批号 030823),连续进样 5 次,每次 10 μ L,记录峰面积,

ISTIC	PKU
-------	-----