

高效液相法测定耐力胶囊3号中人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rb₁ 的含量

王亚楠¹, 王晓波², 刘丹², 袁荣刚² (1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600, 2. 解放军第210医院, 辽宁 大连 116015)

[摘要] 目的 建立耐力胶囊3号中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 含量的测定方法。方法 采用水饱和的正丁醇回流提取, HPLC 法测定含量, 以 C₁₈ 为固定相, 以乙腈(A)和0.1%磷酸(B)进行梯度洗脱, 检测波长 203 nm, 流速 1 ml/min。结果 人参皂苷 Rg₁ 进样量在 0.2~1.0 μg ($r=0.9992$)、人参皂苷 Re 进样量在 0.8~4.0 μg ($r=0.9991$)、人参皂苷 Rb₁ 进样量在 2.0~10.0 μg ($r=0.9991$) 的范围呈良好线性关系, 人参皂苷 Rg₁ 平均加样回收率为 96.67%, RSD 值为 1.14%; 人参皂苷 Re 平均加样回收率为 100.52%, RSD 值为 1.18%; 人参皂苷 Rb₁ 平均加样回收率为 96.94%, RSD 值为 0.59%。结论 该含量测定方法简便准确, 重复性好, 适用于耐力胶囊3号的质量控制

[关键词] 高效液相色谱法; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)04-0302-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.04.018

Determination of contents of ginsenoside Rg₁, Re and Rb₁ in Naili capsule Nov. 3 by HPLC

WANG Yan-an¹, WANG Xiao-bo², Liu dan², XI Rong-gang² (1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China; 2. The 210th Hospital of PLA, Dalian 116015, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method for the determination of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, ginsenoside Rb₁ in Naili capsule Nov. 3. **Methods** HPLC with C₁₈ column was revised to control the content of Radix Panax quinquefolium, the detective wavelength was set at 203 nm, reflux extraction with water saturation of n-butyl alcohol, true and false identification by TCL, the mobile phase was a linear gradient of acetonitrile(A) and 0.1% phosphate acid(B). **Results** Ginsenoside Rg₁, Ginsenoside Re and Ginsenoside Rb₁ showed the good linear relationships at the range of 0.2~1.0 μg ($r=0.9992$), 0.8~4.0 μg ($r=0.9991$), 2.0~10.0 μg ($r=0.9991$), respectively. Their recovery rates: Ginsenoside Rg₁ average recovery was 96.67%, RSD = 1.14%; Ginsenoside Re average recovery was 100.52%, RSD = 1.18%; and Ginsenoside Rb₁ average recovery was 96.94%, RSD = 0.59%, respectively. **Conclusion** These methods were simple and accurate, and was repeatable, which could be used in the quality control of Naili capsule Nov. 3.

[Key words] HPLC; Ginsenoside Rg₁; Ginsenoside Re; Ginsenoside Rb₁

耐力胶囊3号是由解放军第210医院药剂科研制的制剂, 主要成分为西洋参、蛹虫草、红景天等七味中药, 功能为补气养血, 益肾健脾, 润肺强心, 临床主要用于运动员训练, 军事军体训练, 调节亚健康状态。西洋参为方中君药, 人参皂苷为主要活性成分, 为了更好地控制耐力胶囊3号的质量, 参考2010版中国药典^[1]及相关文献^[2-5], 本文建立了高效液相色谱法同时测定耐力胶囊3号中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 的方法。经系统适用性实验及方法学考察结果可见, 此方法分离度好, 重现性好, 准确可靠, 能有效地控制药材的质量。

1 仪器与试药

[作者简介] 王亚楠(1987-), 女, 硕士研究生。Tel: (0411)39847094, E-mail: wyn_lucky@163.com.

[通讯作者] 王晓波。Tel: (0411)39847086, E-mail: wxbhenson0653@sina.com.

美国 Agilent 公司 Agilent 1200 型高效液相色谱仪(1200 series 泵、1200 series UV 检测器、1200 series 柱温箱、1200 series 在线脱气系统); 北京泰克美科技公司 Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 德国 Sartorius Stedimarium 611 VF 纯水器; 瑞士 METTLER AB135-S 十万分之一电子天平; 昆山禾创超声仪器公司 KH-100DB 型数控超声波清洗器; 上海狄氏医疗器械公司移液器; 大连依利特科学仪器有限公司样品过滤器; 上海兴亚净化材料厂 0.45 μm 微孔滤膜; 上海一恒科学仪器有限公司 HWS24 型电热恒温水浴箱。

耐力胶囊3号(批号: 20100521、20100627、20100729), 由解放军第210医院提供。人参皂苷 Rg₁ (批号 110703-201027), 人参皂苷 Re (批号 110754-200822), 人参皂苷 Rb₁ (批号 110705-201034), 均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、乙腈为色谱纯,

水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 含量测定

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取对照品人参皂苷 R_{g_1} , 人参皂苷 R_e , 人参皂苷 R_{b_1} 适量, 加甲醇制成每 1 ml 含人参皂苷 R_{g_1} 0.1 mg、 R_e 0.4 mg、 R_{b_1} 1.0 mg 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(批号: 20100729) 3 g, 精密称定, 放置圆底烧瓶中, 加入水饱和正丁醇 50 ml, 称定重量, 置水浴中加热回流提取 1.5 h, 放冷, 再称定重量, 用水饱和正丁醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤。精密称取续滤液 25 ml, 置蒸发皿中, 蒸干, 残渣加 50% 甲醇使溶解, 转移置 10 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.1.3 阴性溶液的制备 按制备工艺制备不含西洋参的样品, 再按“2.1.2”项下方法制备阴性样品

溶液。

2.2 色谱条件 参考有关文献资料^[6,7], 确定色谱条件为: 色谱柱 Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 以乙腈(A)和 0.1% 磷酸(B)进行梯度洗脱(见表 1); 进样量 10 μl, 流速 1.0 ml/min; 检测波长为 203 nm。按理论塔板数人参皂苷 R_{b_1} 计算大于 10 000, R_{g_1} 和 R_e 分离度大于 1.7, 系统适用性良好。

表 1 流动相洗脱梯度表

时间(min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~40	15~19	85~81
40~60	19~40	81~60
60~90	40~55	60~45
90~100	55~60	45~40

2.3 专属性考察 将“2.1.1”项下对照品溶液、“2.1.2”项下供试品溶液、“2.1.3”项下阴性溶液、甲醇溶剂注入液相色谱仪, 结果在 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 相应保留时间处, 无干扰峰出现, 方法专属性良好。

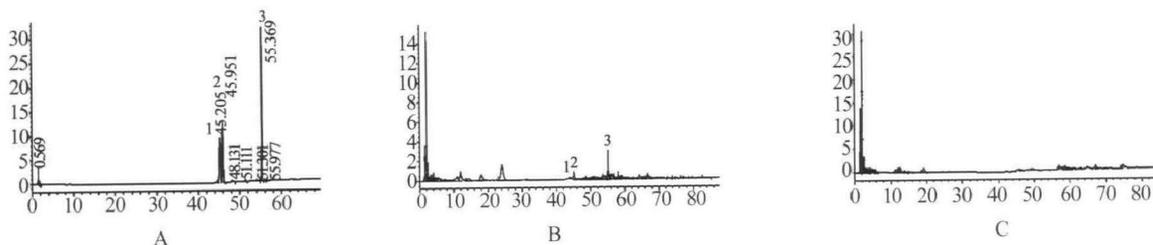


图 1 混合对照品(A)、供试品(B)和阴性溶液(C)HPLC 色谱图

2.4 线性关系的考察 精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml, 分别用甲醇稀释至 1 ml, 摇匀, 分别精密吸取 10 μl 注入液相色谱仪, 以峰面积积分值(Y)为纵坐标, 以对照品进样量(X, μg)为横坐标进行回归处理, 绘制标准曲线, 得人参皂苷 R_{g_1} , R_e 及 R_{b_1} 的回归方程分别为: $Y = 1126.5X - 111.27 (r = 0.9992)$; $Y = 500.9X - 137.19 (r = 0.9991)$; $Y = 378.18X - 285.17 (r = 0.9991)$ 。结果表明: 人参皂苷 R_{g_1} 进样量在 0.2 ~ 1.0 μg、人参皂苷 R_e 进样量在 0.8 ~ 4.0 μg、人参皂苷 R_{b_1} 进样量在 2.0 ~ 10.0 μg 的范围呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 取标准曲线溶液质量浓度分别为 0.1、0.4、1.0 mg/ml 的 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的对照品溶液 10 μl 连续进样 6 次, 测定峰面积。 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 峰面积的 RSD 分别为 0.18%、0.25%、0.14%。结果表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 取样品(批号: 20100729)按

“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于配制后 0、2、4、8、10、24 h 测定, R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 峰面积的 RSD 分别为 0.56%、0.62%、0.47%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品(批号: 20100729)6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 测得 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的峰面积的 RSD 分别为 0.7%、0.5%、0.4%, 表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取上述已知含量样品粉末(批号: 20100729)6 份, 各约 1.5 g, 精密称定, 按样品中 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 含量各加入约等量的对照品, 按“2.1.2”项下方法制备所需溶液, 进行测定, 求得回收率平均值($n = 6$)分别为 99.67%、100.52%、96.94%。RSD 值分别为 1.14%、1.18%、0.59%。

2.9 样品的含量测定 取 3 批样品(批号: 20100521、20100627、20100729), 精密称定, 按“2.1.2”项下方法制
(下转第 309 页)

士、营养师及心理咨询师组成健康服务团队,工作于临床一线,为患者提供全方位的技术服务。在临床查房中,充分与患者交流,与团队中其他成员沟通,才能使药师充分了解患者全面的信息,运用自己的药学知识服务于患者,力争做到用药安全、有效、经济、适当。

临床药师应具备灵活运用所学药学知识的能力,能通过独立的思考判断来评估用药后可能产生的效益及风险,制定药学监护计划,针对药物疗效和主要副作用,特别是能够导致药源性疾病的严重不良反应,设立合理的监护指标和监护周期,为以医师为核心的临床治疗团队保驾护航。

【参考文献】

[1] 陈新谦,金有豫,汤光. 新编药理学,第17版[M].北京:人

民卫生出版社,2011:118.

- [2] 官东秀,冯祚臻,俸小平,等. 伏立康唑药物不良反应文献分析[J]. 齐鲁药事,2009,28(8):507.
- [3] Nolan W, Keith T, Lynn P, *et al.* Effect of omeprazole on the steady-state pharmacokinetics of voriconazole[J]. *Br J Clin Pharmacol*,2003,56 Suppl 1:56.
- [4] Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, *et al.* Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study[J]. *Clin Infect Dis*, 2005,41(9):1242.
- [5] 高宁舟,沈杰,宋钟娟,等. 三唑类抗真菌药物治疗药物监测的研究进展[J]. 药学服务与研究,2009,9(5):336.

[收稿日期]2012-08-15

[修回日期]2012-09-19

(上接第303页)

备,精密吸取供试品溶液和对照品溶液各10 μl,注入液相色谱仪,在“2.2”色谱条件下进行测定,记录

峰面积,按照标准曲线法计算 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的质量分数,结果见下表。

表2 三批样品含量测定结果

批号	人参皂苷 R_{g_1}		人参皂苷 R_e		人参皂苷 R_{b_1}	
	含量(mg/g)	RSD(%)	含量(mg/g)	RSD(%)	含量(mg/g)	RSD(%)
20100521	0.24	0.96	3.08	1.02	3.46	1.42
20100627	0.29	1.31	3.17	0.29	3.50	1.18
20100729	0.25	1.28	3.11	1.33	3.47	0.65

3 讨论

按“2.2”项下色谱条件测定混合对照品溶液和供试品溶液,根据混合对照品溶液的色谱图(见图1)可见, R_{g_1} 和 R_e 基本分开,且峰形较好,经计算得分离度 >1.7 , R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 在本实验条件下的色谱峰较为对称,不对称因子变化范围为 $0.9 \sim 1.1$,符合系统适用性条件,可以根据峰面积进行准确定量分析。经方法学考察结果可见,仪器精密密度良好,此方法重现性好,稳定可靠,简便易操作,是一种对耐力胶囊3号进行质量控制的较好方法。

【参考文献】

[1] 中国药典2010版.一部[S]. 2010:122.

- [2] 刘莉,程龙琼,周世玉. 西洋参中人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 和人参皂苷 R_{b_1} 的含量测定[J]. 医药导报,2011,30(9):1208.
- [3] 汪冰,尤慧莲,徐丽华. HPLC法测定芪参胶囊中的五种化学成分[J]. 中成药,2012,34(3):483.
- [4] 范辉,顾泉琳,贝伟剑. HPLC法测定乌参醒脑滴丸中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 和 R_d [J]. 中成药,2012,34(7):1280.
- [5] 王贵金,贾继明,刘兴国,等. 高效液相色谱法测定注射用姜肌灵中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的含量[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(15):375.
- [6] 王旭,邬国庆,张小茜. HPLC法测定进口西洋参中人参皂苷 R_{b_1} 、 R_e 、 R_{g_1} 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(6):27.
- [7] 于敏,焦连庆,严仲恺,等. 西洋参饮片的高效液相特征图谱[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(15):1310.

[收稿日期]2013-03-14

[修回日期]2013-04-15