

超高效液相色谱法同时测定生脉颗粒中3种皂苷类成分含量

蒋燕霞, 林榜建, 原欢欢, 冉亚东, 禹奇男[△]

(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司, 重庆 涪陵 408000)

摘要:目的 建立同时测定生脉颗粒中人参皂苷 R_{g1}, Re, Rb₁ 含量的超高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 流速为 0.35 mL/min, 检测波长为 203 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 1 μL。结果 人参皂苷 R_{g1}, Re, Rb₁ 质量浓度分别在 19.99~199.88 μg/mL、14.15~141.52 μg/mL、26.42~264.20 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均不大于 2.1%; 平均加样回收率分别为 99.85%、97.16%、96.01%, RSD 分别为 4.93%、2.42%、2.07% (n=6)。结论 该方法简便可靠、重复性好, 可用于同时测定生脉颗粒中人参皂苷 R_{g1}, Re, Rb₁ 的含量。

关键词: 生脉颗粒; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 R_{g1}; 人参皂苷 Rb₁; 超高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)22-0030-03

Simultaneous Determination of Three Saponins in Shengmai Granules by UPLC

JIANG Yanxia, LIN Bangjian, YUAN Huanhuan, RAN Yadong, YU Qinan

(Taiji Group Chongqing Fuling Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Chongqing, China 408000)

Abstract: Objective To establish a UPLC method for the simultaneous determination of ginsenoside R_{g1}, Re and Rb₁ in Shengmai Granules. **Methods** The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), the mobile phase was acetonitrile-water(gradient elution), the flow rate was 0.35 mL/min, the detection wavelength was 203 nm, the column temperature was 25 ℃ and the sample size was 1 μL. **Results** Ginsenoside R_{g1}, Re and Rb₁ showed good linear relationship with the peak area in the ranges of 19.99-199.88 μg/mL, 14.15-141.52 μg/mL and 26.42-264.20 μg/mL, respectively. The RSDs of the precision, stability and repeatability tests were not more than 2.1%. The average recoveries were 99.85%, 97.16% and 96.01%, RSDs were 4.93%, 2.42% and 2.07% (n=6), respectively. **Conclusion** The method is simple, reliable and reproducible, which can be used for the simultaneous determination of ginsenoside R_{g1}, Re and Rb₁ in Shengmai Granules.

Key words: Shengmai Granules; ginsenoside R_{g1}; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁; UPLC; content determination

生脉颗粒为生脉饮改剂型的中药品种,由红参、麦冬、五味子3味药材组方,有生脉、养阴生津功效,能改善冠状动脉循环,降低心肌耗氧量,用于治疗气阴两亏、心悸气短、脉微自汗等症。目前,生脉饮的质量标准只对五味子醇甲进行含量测定,而无此方君药红参活性成分的含量测定项^[1-2]。本试验中采用超高效液相色谱(UPLC)法测定生脉颗粒中3种人参皂苷成分含量,为该制剂的质量评价提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1200 Infinity Series 型超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); AE2400 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.2 试剂

生脉颗粒(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号分别为 17090002, 17090003, 17090004, 18110001, 18120002, 18120003); 人参皂苷 R_{g1} 对照品(批号为 110703-201832, 含量 92.4%), 人参皂苷 Re 对照品

(批号为 110754-201827, 含量 93.4%), 人参皂苷 Rb₁ 对照品(批号为 110704-201726, 含量 92.7%), 均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为双蒸水。

2 方法与结果^[3-15]

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~14 min 时 19% A, 14~17 min 时 19% A→28% A, 17~37 min 时 28% A, 37~40 min 时 28% A→40% A, 40~42 min 时 40% A→100% A); 流速: 0.35 mL/min; 检测波长: 203 nm; 柱温: 25 ℃; 进样量: 1 μL。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取干燥至恒重的3种人参皂苷对照品各适量, 精密称定, 置同一容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 制成人参皂苷 R_{g1}, Re, Rb₁ 质量浓度分别为 199.88, 141.52, 264.20 μg/mL 的混合对照品溶液。

供试品溶液: 取样品适量, 研细, 取 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇 100 mL, 超声(功率 250 W, 频

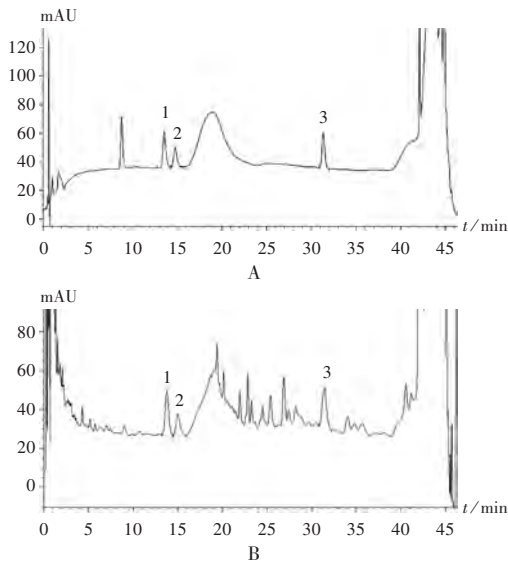
第一作者: 蒋燕霞, 女, 大学本科, 副主任中药师, 研究方向为中药新药研发, (电子信箱)34683458@qq.com。

[△]通信作者: 禹奇男, 男, 硕士研究生, 工程师, 研究方向为中药新药研发, (电话)023-72801079(电子信箱)yuqinann@163.com。

率 40kHz)提取 30min,放冷至室温,滤过,取续滤液 75mL,蒸干,残渣用水 30 mL 使溶解,并转移至分液漏斗,用水饱和和正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 30 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇使溶解,移至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,即得。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取 2.2 项下供试品溶液及混合对照品溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 1。结果,理论板数按人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 计均大于 3 000,分离度均大于 1.5,基线分离良好。



1. 人参皂苷 R_{g_1} 2. 人参皂苷 R_e 3. 人参皂苷 R_{b_1}
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图 1 超高效液相色谱图

线性关系考察:精密量取 2.2 项下混合对照品溶液,用甲醇稀释,制成系列混合对照品溶液,取 $1 \mu\text{L}$,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g}/\text{mL}$)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 的回归方程分别为 $Y_1 = 6.2843X_1 - 53.687$, $Y_2 = 3.6525X_2 + 79.816$, $Y_3 = 4.6146X_3 - 65.957$ ($r > 0.9990$)。结果表明,人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 质量浓度在 $19.99 \sim 199.88 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $14.15 \sim 141.52 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $26.42 \sim 264.20 \mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2 项下混合对照品溶液适量,按拟订色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 0.9%, 0.8% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2.2 项下供试品(批号为 18110001)溶液,分别于室温下放置 0, 2, 4, 6, 8, 16, 24 h 时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 峰面积的 RSD 分别为 1.6%, 1.1%, 1.5% ($n = 7$),表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为 18110001)适量,精密

称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 峰面积的 RSD 分别为 2.1%, 2.0%, 1.8% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为 18110001)适量,共 6 份,各约 2.5 g,精密称定,分别加入一定量人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 对照品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果($n = 6$)

待测成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
人参皂苷 R_{g_1}	0.550	0.550	1.130	105.45	99.85	4.93
	0.549	0.550	1.058	92.55		
	0.549	0.550	1.103	100.73		
	0.550	0.550	1.076	95.64		
	0.549	0.550	1.121	104.00		
	0.549	0.550	1.103	100.73		
人参皂苷 R_e	0.399	0.399	0.786	96.99	97.16	2.42
	0.399	0.399	0.790	97.99		
	0.399	0.399	0.773	93.73		
	0.400	0.399	0.802	100.75		
	0.399	0.399	0.781	95.94		
	0.399	0.399	0.789	97.74		
人参皂苷 R_{b_1}	0.778	0.777	1.548	99.10	96.01	2.07
	0.777	0.777	1.521	95.75		
	0.777	0.777	1.519	95.50		
	0.778	0.777	1.536	97.55		
	0.778	0.777	1.511	94.34		
	0.777	0.777	1.506	93.82		

样品含量测定:取 6 批样品各适量,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(mg/g , $n = 3$)

批号	人参皂苷 R_{g_1}	人参皂苷 R_e	人参皂苷 R_{b_1}
17090002	0.22	0.15	0.24
17090003	0.26	0.14	0.29
17090004	0.30	0.18	0.36
18110001	0.22	0.16	0.31
18120002	0.27	0.16	0.32
18120003	0.26	0.20	0.27

3 讨论

预试验中,对提取方法(超声提取、回流提取)、提取溶剂(甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、20% 甲醇)、正丁醇萃取次数(2 次、3 次、4 次、5 次)进行了考察,结果确定最优的样品前处理方法为甲醇超声提取 30 min,正丁醇萃取 3 次。对乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 冰醋酸溶液进行了预试验,结果各洗脱系统对峰