

文章编号: 1006-2858(2005)01-0026-03

HPLC 法测定熊胆救心滴丸中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量

赫玉芳¹, 南敏伦¹, 司学玲², 赵全成¹

(1. 吉林天药科技股份有限公司, 吉林 长春 130012; 2. 吉林省西洋参集团有限公司, 吉林 靖宇 135200)

摘要: 目的 建立熊胆救心滴丸中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量测定方法。方法 采用 Dikma ODS C_{18} 柱, 流动相为乙腈 0.05% (V/V) 磷酸溶液 (V: V = 21: 79), 检测波长为 203 nm。结果 人参皂苷 R_{g1} 在 0.3~2.4 μg 内其含量与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.8%, RSD 为 1.78%。人参皂苷 Re 在 0.2~1.6 μg 内其含量与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 101.5%, RSD 为 2.29%。结论 测定方法准确、重现性好, 可作为熊胆救心滴丸制剂的质量控制方法。

关键词: 高效液相色谱法; 人参皂苷 R_{g1} ; 人参皂苷 Re; 熊胆救心滴丸

中图分类号: R 914 **文献标识码:** A

熊胆救心滴丸是吉林天药科技股份有限公司在国家基本药物熊胆救心丸的基础上研制的新制剂, 熊胆救心丸由熊胆、蟾酥、麝香、人参、冰片、珍珠、牛黄、猪胆膏、水牛角浓缩粉等中药组成^[1]。该药具有强心益气、芳香开窍的功效, 用于心气不足所致的胸痹心痛、胸闷气短、心悸等症。其中人参系方中君药, 为常用中药, 系五加科植物人参 (*Panax ginseng*

C. A. Mey.) 的干燥根。在原熊胆救心丸标准中没有收载方中药味的含量测定, 现有的文献中也没有对方中药味进行含量测定的研究。作者利用 HPLC 法, 在有关文献的基础上^[2,3], 对熊胆救心滴丸中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re (结构式见图 1) 的含量进行测定, 并对该方法学进行考察, 结果表明该方法可以控制复方制剂的质量。

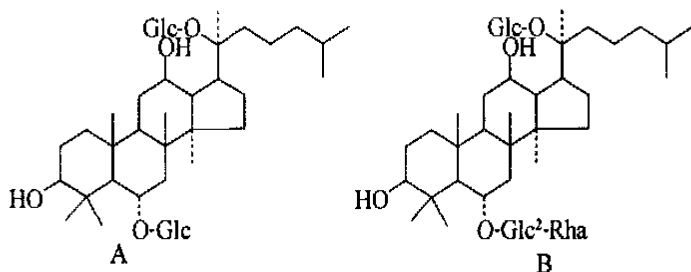


Fig. 1 The structure of ginsenoside R_{g1} (A) and ginsenoside Re (B)

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); 包括四元泵、VWD 检测器、色谱处理数据系统为 Agilent 化学工作站; 超声波清洗机 (功率 250 W、频率 20 kHz, 天鹏电子新技术有限公司)。

1.2 药品与试剂

熊胆救心滴丸由吉林天药科技股份有限公司中药化学室提供, 人参皂苷 R_{g1} (批号: 0703-200221) 和人参皂苷 Re (批号: 07549911) 对照品均购自中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯 (Fisher Chemicals, 批号: 020641), 水为超纯水, 氯仿 (分析纯, 北京化工厂, 批号: 20030129), 正丁醇 (分析纯, 北京化工厂, 批号: 20020220)。

收稿日期: 2004-06-11

作者简介: 赫玉芳 (1973-), 女 (汉族), 吉林长春人, 助理研究员, 主要从事植物化学及中药新药研究开发工作, Tel. 0431-5541874, E-mail hyf@tianyao.com.cn.

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 对照品适量, 加甲醇分别制成每 1 mL 含人参皂苷 R_{g1} 0.15 mg、人参皂苷 Re 0.10 mg 的溶液, 备用。

2.2 供试品溶液的制备

取本品研细, 精密称取熊胆救心滴丸粉末 10 g, 置索氏提取器中加氯仿 80 mL, 回流提取 3.5 h, 取出滤纸筒, 放置, 挥干氯仿, 连同滤纸置具塞锥形瓶中, 精密加入水饱和正丁醇 100 mL, 静置过夜, 称定质量, 超声处理 30 min, 用水饱和正丁醇补足减失质量。滤过, 精密吸取续滤液 50 mL, 置分液漏斗中, 加入氨试液 50 mL, 放置分层, 取正丁醇层, 蒸干, 残渣用甲醇溶解, 移至 5 mL 量瓶中并稀释至刻度, 经微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 备用。

2.3 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Dikma ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm); 进样量: 10 μL; 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 流动相: 乙腈-0.05% (Φ) 磷酸溶液 (具体比例见表 1); 检测波长: 203 nm。

Table 1 The ratio of mobile phase

NO.	t/min	Φ(acetonitrile)/%	Φ(phosphoric acid water)/%
1	0.1	21	79
2	50	21	79
3	65	60	40
4	75	21	79
5	85	21	79

在上述色谱条件下, 对熊胆救心滴丸进行测定, 按外标法计算。对照品、样品及阴性对照色谱图见图 2。结果表明, 人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 Re 与杂质峰没有重叠, 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 分离效果好 (分离度为 1.631), 理论塔板数以人参皂苷 Re 计为 6 322 (n = 5), RSD = 1.2%。

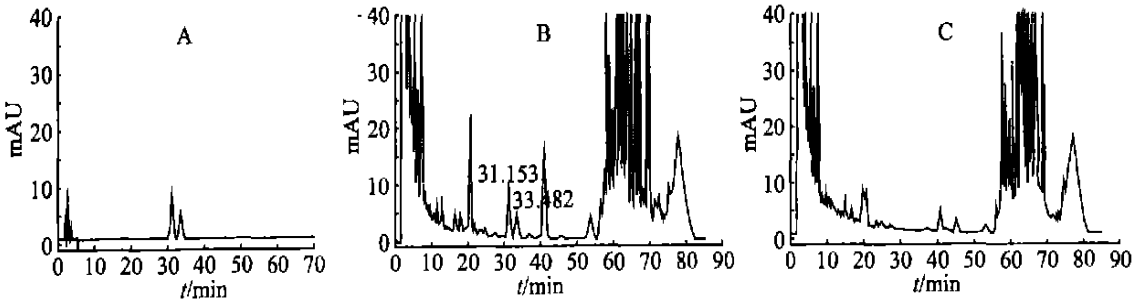


Fig. 2 The HPLC chromatograms of ginsenoside R_{g1} and ginsenoside Re (A), sample (B), blank control (C)

3 结果

3.1 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 线性关系考察

精密称取干燥至恒重的人参皂苷 R_{g1} 对照品 7.5 mg, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 1、2、4、6、8 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为系列标准溶液。分别进样 10 μL, 按上述色谱条件测定。以峰面积为纵坐标, 人参皂苷 R_{g1} 含量为横坐标绘制标准曲线, 回归方程为 $A = 302.96m - 2.43$, $r = 0.9996$ 。人参皂苷 R_{g1} 在 0.3 ~ 2.4 μg 内其含量与峰面积线性关系良好。

精密称取干燥至恒重的人参皂苷 Re 对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 1、2、4、6、8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为系列标准溶液。分别进样 10 μL, 按上述色谱条件测定。

以峰面积为纵坐标, 人参皂苷 Re 含量为横坐标绘制标准曲线, 回归方程为 $A = 269.36m - 4.38$, $r = 0.9999$ 。人参皂苷 Re 在 0.2 ~ 1.6 μg 内其含量与峰面积线性关系良好。

3.2 精密度试验

按“2.2”条方法制备供试品溶液。连续进行 5 次测定, 其人参皂苷 R_{g1} 的 RSD 为 0.60%, 人参皂苷 Re 的 RSD 为 0.18%, 表明其精密度良好。

3.3 稳定性试验

取同一供试品溶液, 室温放置, 在 0、4、8、12、24 h 分别进样, 测定峰面积, 其人参皂苷 R_{g1} 的 RSD 为 1.55%, 人参皂苷 Re 的 RSD 为 0.69%, 表明供试品溶液中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 在 24 h 内稳定。

3.4 重现性试验

对同一批样品分别称取 5 份, 按照“2.2”条方法操作, 按“2.3”条色谱条件测定, 其人参皂苷

R_{g1} 的 RSD 为 0.24%, 人参皂苷 Re 的 RSD 为 1.46%, 表明重现性良好。

3.5 回收率试验

精密称取已知人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 含量的样品, 分别精密加入人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 对照品, 按“2.2”条方法制备待测液, 按“2.3”条色谱条件测定。结果见表 2、3。

精密称取已知人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re

Table 2 The recovery test of ginsenoside R_{g1}(n= 5)

<i>m</i> _{sample} / g	<i>m</i> _{original} / mg	<i>m</i> _{added} / mg	<i>m</i> _{found} / mg	Recovery/ %	Average/ %	RSD/ %
10.00	1.139	1.0	2.154	101.5	98.8	1.8
10.20	1.162	1.0	2.154	99.2		
10.85	1.236	1.0	2.222	98.6		
10.68	1.217	1.0	2.185	96.8		
11.60	1.321	1.0	2.300	97.9		

Table 3 The recovery test of ginsenoside Re (n= 5)

<i>m</i> _{sample} / g	<i>m</i> _{original} / mg	<i>m</i> _{added} / mg	<i>m</i> _{found} / mg	Recovery/ %	Average/ %	RSD/ %
10.00	0.631	0.5	1.133	100.4	101.5	2.3
10.20	0.644	0.5	1.143	99.8		
10.85	0.685	0.5	1.207	104.4		
10.68	0.674	0.5	1.174	100.0		
11.60	0.732	0.5	1.253	104.2		

3.6 样品的含量测定

对 3 批样品进行含量测定。结果见表 4。

按“2.2”条方法制备样品, 按“2.3”色谱条件

Table 4 The determination of the sample (n= 3)

Batch	Content of ginsenoside	Content of ginsenoside	Total content of ginsenoside R _{g1}
	R _{g1} (w) / %	Re(w) / %	and ginsenoside Re(w) / %
20030812	0.0145	0.0087	0.0232
20030820	0.0146	0.0087	0.0233
20030827	0.0144	0.0074	0.0217

4 讨论

4.1 样品制备方法的选择

在样品制备中, 曾利用超声的方法除去聚乙二醇, 虽然时间较短, 利用的氯仿量也少, 但是重现性较差, 故采用索式提取的方法除去聚乙二醇, 重现性好。利用正丁醇提取以后, 加入氨水除去一些酸性物质, 分离效果更好。

4.2 流动相的选择

利用稳定的流动相(乙腈-0.05% (v/v) 磷酸溶液, V: V= 21: 79), 按不同的比例进行分离^[2, 3],

虽然可以分离, 但是时间太长, 而采用梯度洗脱的方法既缩短了时间, 又提高了分离效果。

参考文献:

[1] WS3-B-1461-93. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂第七册 [S].

[2] 胡晓斌, 李颖, 吴苏澄, 等. 生脉胶囊中人参皂苷 R_{g1}、Re 的 HPLC 测定 [J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14 (1): 49- 51.

[3] 陈志清, 徐柏颐. HPLC 测定生脉注射液中人参皂苷 Re 的含量 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24: 36- 37.

(下转至第 32 页)

range [J]. Clin Chem, 1993, 39(5) : 825- 832.

[6] Weinkove C, Reed P. Fatty acids in erythrocytes mea-

sured by isocratic HPLC [J]. Clin Chem, 1994, 40(9) : 1707- 1712.

Detection of fatty acid in the Baiduoning Injection by the pre-column derivation HPLC

DING Yi, TANG Xing

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To develop a method for the determination of fatty acid in the Baiduoning Injection by Pre-column HPLC. **Method** The oil phase in the Baiduoning Injection was separated by adding anhydrous Na_2SO_4 , then the oil phase was extracted with petroleum and acetone. Fatty acid was derivatized with *p*-bromophenacylbromide as derivative and 18-crown-6 as catalyst. The method used C_8 column material and isocratic acetonitrile-water eluent and the internal standard was heptadecanoic acid. **Results** The standard curves of linoleic, palmitic, oleic, stearic acid were linear within the range of 46~ 307 ng, 27.2~ 181 ng, 144~ 960 ng, 9.7~ 65.1 ng and the coefficient were 0.999 7, 0.999 9, 0.999 5, 0.999 6. The four fatty acid recoveries were 98.2%, 97.5%, 99.8%, 102.3%, and the RSD were 2.6%, 3.0%, 1.2%, 2.4% individually. **Conclusion** The present method is reliable and relatively simple for the determination of fatty acid in the Baiduoning Injection.

Key words: assay; emulsion injection; fatty acid determination; pre-column derivation; HPLC

(上接第28页)

Determination of ginsenoside Rg_1 and ginsenoside Re in the Xiongdanjiuxin Dropping Pills by HPLC

HE Yufang¹, NAN Mirun¹, SI Xueling², ZHAO Quancheng¹

(1. Jilin Natural Medicine and Technology Co., Ltd., Changchun 130012, China; 2. Jilin Province American Ginseng Group Co., Ltd., Jingyu 135200, China)

Abstract: Objective To establish the HPLC method for the determination of ginsenoside Rg_1 and ginsenoside Re in the Xiongdanjiuxin Dropping Pills. **Method** The chromatographic conditions included the column of Dikma ODS C_{18} column (4.6 mm × 250 mm), the mobile phase was acetonitrile-0.05% (V/V) phosphoric acid solution (V: V = 21: 79), the detection wavelength was set at 203 nm and the column temperature was 25 °C. **Results** The linear range of ginsenoside Rg_1 was 0.3~ 2.4 µg and Re was 0.2~ 1.6 µg respectively. The average recovery of ginsenoside Rg_1 and ginsenoside Re were 99.8% with RSD 1.78% and 101.5% with RSD 2.29%. **Conclusion** The method is accurate and can be used as a determination of ginsenoside Rg_1 and ginsenoside Re in the Xiongdanjiuxin Dropping Pills.

Key words: HPLC; ginsenoside Rg_1 ; ginsenoside Re; Xiongdanjiuxin Dropping Pills