

[质 量]

UHPLC 法同时测定参麦注射液中 8 种人参皂苷

杨 林^{1,2}, 徐晓珍^{1#}, 陈劲柏³, 吴友苹⁴, 陈娇婷^{1,2}, 辛艳飞^{1*}

(1. 浙江省医学科学院安全性评价研究中心, 浙江 杭州 310013; 2. 浙江工业大学长三角绿色制药协同创新中心, 浙江 杭州 310013; 3. 绍兴市中医院, 浙江 绍兴 312499; 4. 浙江大学医学院附属儿童医院, 浙江 杭州 310006)

摘要: **目的** 建立 UHPLC 法同时测定参麦注射液(红参、麦冬)中人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd、Rg3 的含有量。**方法** 该药物的分析采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-水, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 203 nm。**结果** 8 种人参皂苷在各自范围内线性关系良好($r>0.997\ 0$), 平均加样回收率 97.43%~104.24%, RSD 0.37%~5.34%。**结论** 该方法稳定可靠, 重复性好, 可用于参麦注射液质量控制。

关键词: 参麦注射液; 人参皂苷; UHPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)01-0027-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.006

Simultaneous determination of eight ginsenosides in Shenmai Injection by UHPLC

YANG Lin^{1,2}, XU Xiao-zhen^{1#}, CHEN Jin-bai³, WU You-ping⁴, CHEN Jiao-ting^{1,2}, XIN Yan-fei^{1*}

(1. Center for Safety Evaluation, Zhejiang Provincial Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2. Collaborative Innovation Center of Yangtze River Delta Region Green Pharmaceuticals, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310013, China; 3. Shaoxing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaoxing 312499, China; 4. Children's Hospital Affiliated to Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: AIM To establish a UHPLC method for the simultaneous content determination of ginsenosides Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, Rd, Rg3 in Shenmai Injection (*Ginseng Radix et Rhizoma Rubra, Ophiopogonis Radix*). **METHODS** The analysis of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Agilent Eclipse Plus C₁₈ column (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-water flowing at 0.3 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 203 nm. **RESULTS** Eight ginsenosides showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.997\ 0$), whose average recoveries were 97.43%–104.24% with the RSDs of 0.37%–5.34%. **CONCLUSION** This stable, reliable and reproducible method can be used for the quality control of Shenmai Injection.

KEY WORDS: Shenmai Injection; ginsenosides; UHPLC

参麦注射液是由古方参麦饮衍变而来, 由红参、麦冬提炼精制而成, 为临床常用中药注射液之一^[1-2], 在益气固脱、养阴生津的传统药效基础上, 它还具有抗心肌缺血、去除氧自由基等药理作

用, 临床上广泛应用于治疗心血管疾病、免疫功能低下、各种慢性疾病^[3-5]。

研究表明, 人参皂苷是参麦注射液中最主要的有效成分, 但现行检测标准仅采用 HPLC 法对人参

收稿日期: 2018-03-09

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LY17H310009)

作者简介: 杨 林 (1994—), 男, 硕士, 从事药物代谢动力学研究。Tel: (0571) 87568012-8304, E-mail: luckbuff@163.com

#共同第一作者: 徐晓珍 (1985—), 女, 研究实习生, 从事药物代谢动力学研究。Tel: (0571) 87568012, E-mail: luopu1987@163.com

*通信作者: 辛艳飞 (1976—), 男, 研究员, 从事药物毒代动力学研究。E-mail: xinyf1976@163.com

皂苷 Rg1、Re、Rb1 含有量进行测定,难以全面控制制剂质量^[6];目前也有采用 HPLC 法同时测定其中多种人参皂苷含有量的报道^[7-8],但受限于方法分离度和灵敏度问题,分析时间较长,分离效果也不理想。本实验采用超高效液相色谱(UHPLC)法同时测定参麦注射液中人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd、Rg3 的含有量,以期为全面评价该制剂质量提供参考。

1 材料

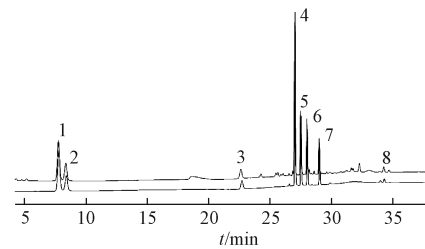
1.1 仪器 Agilent 1290 infinity 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);MS105DU 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 试药 人参皂苷 Rg1(批号 Z26S7X21730,含有量 98%)、人参皂苷 Re(批号 B10M8S35243,含有量 98%)、人参皂苷 Rf(批号 P09M8F31017,含有量 98%)、人参皂苷 Rb1(批号 Z06M8L30693,含有量 98%)、人参皂苷 Rc(批号 P24F8F30057,含有量 98%)、人参皂苷 Rb2(批号 P09M8F35575,含有量 98%)、人参皂苷 Rd(批号 Z27F8X30060,含有量 98%)、人参皂苷 Rg3(批号 Z01D7X25885,含有量 98%)对照品购于上海源叶生物科技有限公司。参麦注射液由杭州正大青春宝有限公司提供(批号 1706271、1611071、1611081、1611082,10 mL/支)。乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司);其他试剂为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适应性考察 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm,1.8 μm);流动相乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~10 min,19% A;10~18 min,19%~23% A;18~21 min,23% A;21~31 min,23%~40% A;31~40 min,40%~45% A);体积流量 0.3 mL/min;柱温 30℃;检测波长 203 nm;进样量 1 μL,理论塔板数按人参皂苷 Rg1 计,应不低于 5 000。8 种成分与其他

组分均能达到基线分离,色谱图见图 1。



注:由上至下,依次为供试品、对照品

1. 人参皂苷 Rg1 2. 人参皂苷 Re 3. 人参皂苷 Rf 4. 人参皂苷 Rb1 5. 人参皂苷 Rc 6. 人参皂苷 Rb2 7. 人参皂苷 Rd 8. 人参皂苷 Rg3

1. ginsenoside Rg1 2. ginsenoside Re 3. ginsenoside Rf 4. ginsenoside Rb1 5. ginsenoside Rc 6. ginsenoside Rb2 7. ginsenoside Rd 8. ginsenoside Rg3

图 1 各成分 UHPLC 色谱图

Fig. 1 UHPLC chromatograms of various constituents

2.2 对照品溶液制备 精密称取人参皂苷 Rg1(5.081 mg)、人参皂苷 Re(3.579 mg)、人参皂苷 Rf(1.062 mg)、人参皂苷 Rb1(10.061 mg)、人参皂苷 Rc(5.023 mg)、人参皂苷 Rb2(5.033 mg)、人参皂苷 Rd(10.011 mg)、人参皂苷 Rg3(0.901 mg)对照品,置于 1 mL 量瓶中,20%乙腈溶解并稀释至刻度,制成贮备液,精密吸取适量至 10 mL 量瓶中,加初始比例流动相至刻度,制成分别含人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd、Rg3 0.390、0.170、0.072、0.790、0.308、0.220、0.139、0.019 mg/mL 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备 将注射液过 0.22 μm 微孔滤膜,弃初滤液 3 滴后收集续滤液,即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下对照品溶液适量,制成 5 个质量浓度(表 1),在“2.1”项色谱条件下进样 1 μL 测定。以对照品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,结果见表 2,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性浓度范围(mg/mL)

Tab. 1 Linear concentration ranges of various constituents (mg/mL)

人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rf	人参皂苷 Rb1	人参皂苷 Rc	人参皂苷 Rb2	人参皂苷 Rd	人参皂苷 Rg3
0.039	0.017	0.007	0.079	0.031	0.022	0.014	0.002
0.156	0.068	0.029	0.316	0.123	0.088	0.056	0.008
0.195	0.085	0.036	0.395	0.154	0.110	0.069	0.010
0.292	0.128	0.054	0.593	0.231	0.165	0.104	0.014
0.390	0.170	0.072	0.790	0.308	0.220	0.139	0.019

2.5 精密度试验 取同一供试品溶液(批号 1706271),在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次,测得人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、

Rd、Rg3 峰面积 RSD 分别为 0.53%、1.29%、2.21%、0.55%、0.64%、0.43%、0.66%、2.71%,表明仪器精密度良好。

表 2 各成分线性关系
Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/(mg·mL ⁻¹)	<i>r</i>
人参皂苷 Rg1	<i>Y</i> =820.09 <i>X</i> +12.561	0.039 0~0.389 6	0.997 5
人参皂苷 Re	<i>Y</i> =817.67 <i>X</i> +5.638 3	0.017 0~0.170 0	0.998 2
人参皂苷 Rf	<i>Y</i> =921.71 <i>X</i> +2.630 7	0.007 2~0.071 7	0.998 9
人参皂苷 Rb1	<i>Y</i> =613.48 <i>X</i> +16.889	0.079 0~0.790 4	0.997 8
人参皂苷 Rc	<i>Y</i> =619.96 <i>X</i> +6.163 2	0.030 8~0.308 2	0.997 4
人参皂苷 Rb2	<i>Y</i> =702.9 <i>X</i> +4.355 7	0.022 0~0.219 9	0.997 5
人参皂苷 Rd	<i>Y</i> =787.04 <i>X</i> +1.899 4	0.013 9~0.139 0	0.997 2
人参皂苷 Rg3	<i>Y</i> =1 116.6 <i>X</i> -1.993 8	0.001 9~0.019 1	0.998 2

2.6 重复性试验 取同一注射液（批号 1706271），按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd、Rg3 含有量 RSD 分别为 1.39%、2.32%、1.73%、0.54%、0.41%、2.57%、0.39%、1.05%，表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率实验 精密吸取含有量已知的供试品溶液（批号 1706271）0.5 mL，精密加入“2.4”项下对照品溶液 0.5 mL，充分混匀，平行

6 份，过 0.22 μm 微孔滤膜，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd、Rg3 平均加样回收率（RSD）分别为 98.64%（1.39%）、98.00%（2.19%）、97.43%（1.05%）、97.95%（0.37%）、104.24%（5.34%）、100.43（1.00%）、99.68%（2.62%）、100.91%（0.91%）。

2.8 样品含有量测定 取 4 批注射液，过 0.22 μm 微孔滤膜，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表 3。

表 3 各成分含有量测定结果（mg/mL，*n*=6）

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/mL, *n*=6)

批号	人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rf	人参皂苷 Rb1	人参皂苷 Rc	人参皂苷 Rb2	人参皂苷 Rd	人参皂苷 Rg3
1706271	0.176	0.102	0.046	0.286	0.164	0.109	0.067	0.016
1611071	0.143	0.082	0.033	0.171	0.076	0.062	0.034	0.011
1611081	0.143	0.082	0.033	0.157	0.070	0.056	0.029	0.011
1611082	0.146	0.083	0.035	0.162	0.072	0.058	0.028	0.012

3 讨论

前期查阅文献发现，不同类型人参皂苷的结构十分相似，分离难度较大，故在文献报道基础上采用梯度洗脱方式^[9-10]。本实验考察了不同流动相系统对分离效果的影响，如乙腈-水、0.05% KH₂PO₄ 缓冲盐-乙腈等，最终确定乙腈-水作为流动相进行梯度洗脱；考察了柱温（20、25、30、35、40℃）和体积流量（0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL/min）对分离度的影响，发现 30℃、0.3 mL/min 下各色谱峰分离度最优，并且能保持柱压在合理范围内；考察了进样量对分离度的影响，发现 1 μL 时色谱峰峰形最佳，而大于 1 μL 时峰形较差，小于 1 μL 时峰面积太小。

根据 Van Deemter 理论，色谱柱粒径越小，塔板数高度越低，柱效越高，本实验采用 1.8 μm 小颗粒填料色谱柱，35 min 内即可实现参麦注射液中 8 种人参皂苷的有效分离，可大大提高分析效率。与常规 HPLC 法相比，在所测皂苷类成分含有量基

本一致的情况下^[11]UHPLC 法可节省近 60 min，故本实验采用该方法测定时可为快速全面评价参麦注射液质量提供参考。

参考文献：

[1] 曹旭东, 丁志山, 陈建真. 参麦注射液药理及临床研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(3): 104-106.

[2] 余健, 辛艳飞, 宣尧仙. 参麦注射液药理作用的物质基础研究进展[J]. 医药导报, 2013, 32(4): 497-500.

[3] 张冰, 李莉, 田临红. 参麦注射液的临床应用进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(10): 1444-1445.

[4] 苏萍, 吕书峰, 范雪梅, 等. 参麦注射液及其有效组分对 H₂O₂ 诱导心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中成药, 2011, 33(12): 2150-2153.

[5] 毛静远, 张伯礼, 王贤良. 参麦注射液治疗心力衰竭机制研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(12): 1801-1803.

[6] WS₃-B-3428-98-2010Z, 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S]. 2010.

[7] 曹树萍, 聂黎行, 王钢力, 等. HPLC 法同时测定参麦注射液中 9 个人参皂苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 476-478.

- [8]

陈闽军, 吴永江, 程翼宇. 高效液相色谱用于参麦注射液人参皂苷的含量测定和批次一致性考察[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(8): 623-626.
- [9]

刘 婷, 徐 虹. 超高效液相色谱法快速测定参麦注射液中 6 种皂苷类成分含量[J]. 医药导报, 2016, 35(11): 1259-1261.
- [10]

刘 燕, 聂黎行, 陈方军, 等. 高分离度快速液相色谱-离子阱质谱分析参麦注射液化学成分[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1672-1677.
- [11]

董 礼, 干建伟, 李 梅, 等. HPLC 法快速测定参麦注射液指纹图谱[J]. 中成药, 2016, 38(3): 599-602.

HPLC 法同时测定涤痰丸中 7 种成分

徐 阳¹, 单柏宇², 徐伟男³, 鲍慧玮^{4*}

(1. 长春医学高等专科学校药品食品学院, 吉林 长春 130031; 2. 白城市食品药品检验所, 吉林 白城 137000; 3. 呼伦贝尔北方药业有限公司, 内蒙古 呼伦贝尔 022150; 4. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定涤痰丸(牵牛子、大黄、黄芩)中没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷的含有量。**方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 254、278、320 nm。**结果** 7 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.999\ 5$), 平均加样回收率 98.74%~100.95%, RSD 0.86%~1.84%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于涤痰丸的质量控制。

关键词: 涤痰丸; 化学成分; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)01-0030-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.007

Simultaneous determination of seven constituents in Ditan Pills by HPLC

XU Yang¹, SHAN Bai-yu², XU Wei-nan³, BAO Hui-wei^{4*}

(1. College of Drug and Food, Changchun Medical College, Changchun 130031, China; 2. Baicheng Municipal Institute for Food and Drug Control, Baicheng 137000, China; 3. Hulunbuir Northern Pharmaceutical Co., Ltd., Hulunbuir 022150, China; 4. College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of gallic acid, catechin, caffeic acid, rhein, emodin, ferulic acid and baicalin in Ditan Pills (*Pharbitidis Semen*, *Rhei Radix* et *Rhizoma*, *Scutellariae Radix*). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 245, 320, 278 nm. **RESULTS** Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 5$), whose average recoveries were 98.74%–100.95% with the RSDs of 0.86%–1.84%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Ditan Pills.

KEY WORDS: Ditan Pills; chemical constituents; HPLC

收稿日期: 2018-02-09

作者简介: 徐 阳 (1988—), 男, 博士, 讲师, 从事中药成分及药效研究。Tel: (0431) 84825155, E-mail: 251748191@qq.com

* 通信作者: 鲍慧玮 (1989—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药成分及药效研究。Tel: (0431) 86172690, E-mail: baohuiwei@163.com