

HPLC 法测定化淤生骨胶囊中人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 的含量

代恩松¹, 田相静²

(山东大学齐鲁医院药品调剂科¹, 小儿内科², 山东 济南 250012)

摘要:目的 建立化淤生骨胶囊中人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法(HPLC)测定。色谱柱为 Kromasil-C18(5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm), 乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 203 nm。结果 人参皂苷 Rg1 浓度在 0.0522 mg/ml~0.8220 mg/ml 范围内与峰面积的线性关系良好 ($\gamma=0.9994$); 人参皂苷 Rb1 浓度在 0.0583 mg/ml~0.7830 mg/ml 范围内与峰面积的线性关系良好($\gamma=0.9990$)。结论 所建方法准确, 重复性好, 可用于测定化淤生骨胶囊中的人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1。

关键词:化淤生骨胶囊; 人参皂苷; HPLC; 含量测定

中图分类号: R286

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2018.15.022

文章编号: 1006-1959(2018)15-0072-04

Determination of Ginsenoside Rg1 and Ginsenoside Rb1 in Huayu Sheng Gu Capsule by HPLC

DAI En-song¹, TIAN Xiang-jing²

(Department of Drug Dispensing¹, Department of Pediatrics², Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1 in Huayu Shenggu Capsule. Methods High performance liquid chromatography (HPLC) was used. The column was Kromasil-C18 (5 μ m, 4.6 mm \times 250mm), and the gradient was eluted with acetonitrile-water as the mobile phase. The detection wavelength was 203 nm. Results The linear relationship between the concentration of ginsenoside Rg1 and the peak area in the range of 0.0522mg/ml to 0.8220mg/ml was good ($\gamma=0.9994$); The linear relationship between the concentration of ginsenoside Rb1 and the peak area was in the range of 0.0583mg/ml to 0.7830 mg/ml ($\gamma=0.9990$). Conclusion The method is accurate and reproducible. It can be used to determine ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1 in Huayu Shenggu capsule.

Key words: Huayu Shenggu capsule; Ginsenoside; HPLC; Determination

化淤生骨胶囊由三七、延胡索等 7 种中药制成, 具有益肾健骨, 祛瘀止痛之功效, 临床主治骨蚀, 腐骨疽(股骨头无菌缺血性坏死, 骨髓炎)。人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 为三七的主要有效成分之一, 可作为化淤生骨胶囊剂质量控制的指标成分。参考有关文献^[1-3], 建立了化淤生骨胶囊中三七含量测定的高效液相色谱方法。本法准确、简便、快捷, 适用于化淤生骨胶囊的质量控制。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 岛津 LC-高效液相液相色谱仪, SPD-20A 型控制器; 色谱柱: Kromasil-C18 (5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm); FA2004 万分之一电子分析天平(上海精科天美科学仪器有限公司); AE240 十万分之一电子分析天平(梅特勒公司提供)。所用试剂均为分析纯或色谱纯。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg1

对照品 8.22 mg、人参皂苷 Rb1 对照品 7.83 mg。分别置于 10 ml 容量瓶中, 以甲醇溶解。制成每 1 ml 约含人参皂苷 Rg1 0.822 mg、人参皂苷 Rb1 0.783 mg 的混合溶液, 即得混合标准品溶液。再用甲醇稀释成不同浓度的混合标准品溶液, 见表 1。

1.2.2 供试品溶液的制备^[4-6] 取本品粉末约 2.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中; 精密加入甲醇 50 ml, 密塞, 称定重量, 放置过夜。置 80 $^{\circ}$ C 水浴上加热回流提取 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 ml 蒸干, 残渣加水 20 ml 使溶解; 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次(每次 20 ml), 合并正丁醇提取液, 再用水洗涤 3 次, 每次 30 ml, 弃去水液, 分取正丁醇提取液; 蒸干, 残渣用甲醇适量使溶解, 并转移至 25 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

1.2.3 阴性对照品溶液的制备 取阴性对照品(缺三七) 2.0 g, 同供试品溶液的制法制成阴性对照溶液。

1.2.4 液相色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈为流动相 A; 以水为流动相 B, 按表 2

作者简介: 代恩松(1985.12-), 男, 山东临沂人, 本科, 药师, 研究方向: 药物研究及管理

中的规定进行梯度洗脱;检测波长为 203 nm。

表 1 混合标准品溶液中各对照品浓度(mg/ml)

对照品溶液	人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Rb1
1	0.8220	0.7830
2	0.6165	0.5873
3	0.4110	0.3915
4	0.2055	0.1968
5	0.0522	0.0583

表 2 梯度洗脱条件(%)

时间(min)	溶剂 A	溶剂 B
0~35	19	81
35~55	19→29	81→71
55~70	29	71
70~100	29→40	71→60

2 结果

2.1 方法学考察

2.1.1 专属性考察 分别取人参皂苷 Rg1、Rb1 对照品溶液,供试品溶液,阴性对照品溶液 20 μl,注入高效液相色谱仪,按确定的方法检测。结果显示,对照品溶液与供试品溶液在相同的保留时间有相应的峰,而阴性对照没有。说明本法测定的专属性好、无干扰,见图 1、图 2、图 3。

2.1.2 线性关系考察 将按“1.2.1”项下制得的对照品溶液分别按“1.2.4”项下色谱条件进样,计算各标准品中人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1 的峰面积。以进样量的对数为横坐标(x),峰面积的对数为纵坐标(y),

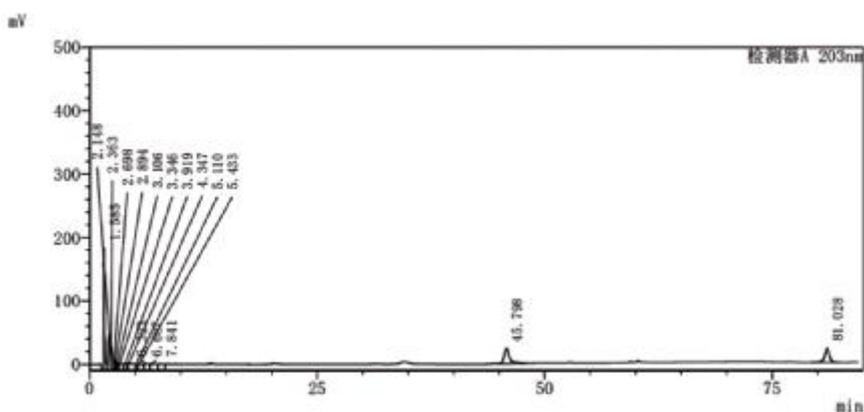


图 1 对照品色谱图

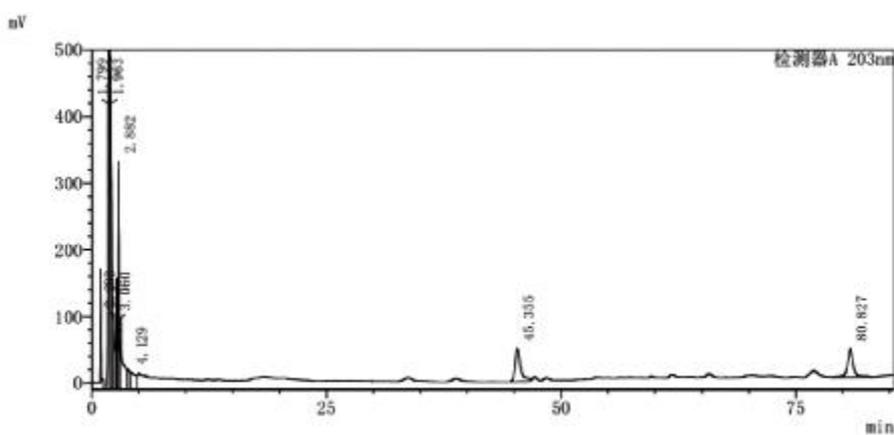


图 2 供试品色谱图

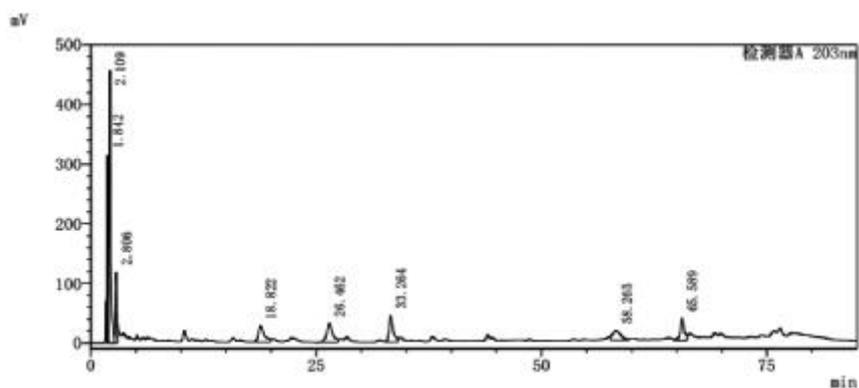


图 3 阴性对照色谱图

绘制标准曲线,计算回归方程,见表 3、图 4、图 5。人参皂苷 Rg1, 人参皂苷 Rb1 在各自的线性范围内, 进样量与峰面积呈良好线性关系,见表 4。

2.5.3 重复性考察 取 6 份同一批次化淤生骨胶囊粉末适量(取样量见表 5),精密称定。按“1.2.2”项下方

法制备供试品溶液;按“1.2.4”项下色谱条件进样;每次进样 20 μ l,测定 人参皂苷 Rg1,人参皂苷 Rb1 含量,见表 5。结果表明用此方法制备供试品溶液重复性良好。

表 3 对照品线性关系考察结果

样品编号	人参皂苷 Rg1(mg/ml)	人参皂苷 Rg1 峰面积	人参皂苷 Rb1(mg/ml)	人参皂苷 Rb1 峰面积
1	0.8220	3197307	0.7830	2664878
2	0.6165	2425786	0.5873	1991128
3	0.4110	1726592	0.3915	1453302
4	0.2055	1001315	0.1968	802742
5	0.0522	342224	0.0583	284597

表 4 对照品线性回归方程、相关系数及线性范围

对照品	回归方程	相关系数 r	线性范围(mg/ml)
人参皂苷 Rg1	$y=3651388.302x+199803.714$	0.9994	0.0522- 0.8220
人参皂苷 Rb1	$y=3226702.087x+137742.3122$	0.9990	0.0583- 0.7830

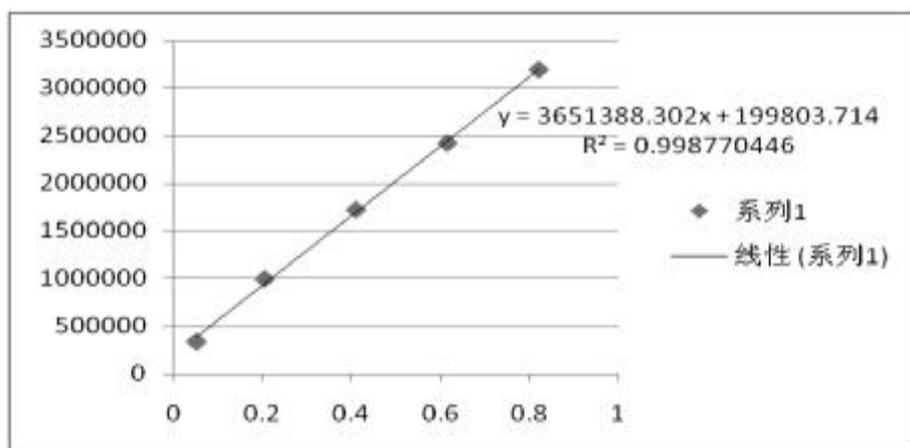


图 4 人参皂苷 Rg1 标准曲线

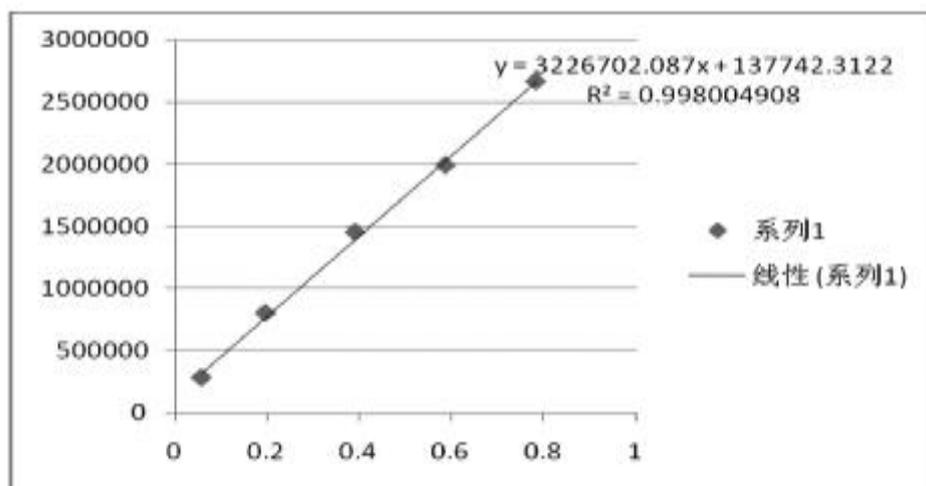


图 5 人参皂苷 Rb1 标准曲线

表 5 化淤生骨胶囊重复性试验结果

样品编号	1	2	3	4	5	6	RSD%
Rg1 含量(mg/g)	4.7231	4.7818	4.6928	4.6883	4.6950	4.6919	0.77
Rb1 含量(mg/g)	4.3633	4.3772	4.2954	4.2860	4.3457	4.3651	0.89

2.5.4 精密度考察 将按“2.1”项下制得的同一对照品溶液,重复进样 6 次;测定仪器精密度良好,见表 6。

2.5.5 稳定性试验 对同一供试品溶液每隔 2~4 h 测定 1 次,共测定 6 次,见表 7。

2.5.6 加样回收率试验 分别精密称定胶囊内容物适

量(人参皂苷 Rg1 含量 4.72 mg/g、人参皂苷 Rb1 含量 4.36 mg/g)1.0g,共 6 份;精密称定,分别精密加入人参皂苷 Rg1、Rb1 对照品溶液。如法制备供试液,如法分别测定人参皂苷 Rg1、Rb1 的含量,计算回收率,结果表明回收率良好,见表 8。

表 6 化淤生骨胶囊精密度试验结果

样品编号	1	2	3	4	5	6	RSD(%)
Rg1 峰面积	1071123	1072875	1079359	1066960	1085735	1078560	0.63
Rb1 峰面积	827342	822727	825210	855033	851775	850241	1.80

表 7 化淤生骨胶囊稳定性试验

样品编号	0	2	4	8	12	24	RSD(%)
Rg1 峰面积	2038271	2062881	1996907	1974655	1969129	2035400	1.90
Rb1 峰面积	1573682	1536955	1549130	1504479	1437665	1522420	1.53

表 8 加样回收试验结果

成分	称样量(g)	供试品中量(mg)	加入量(mg)	测定总量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
人参皂苷	2.0023	9.4509	4.10	13.5044	99.66	99.94	1.04
Rg1	2.1024	9.9233	4.10	14.0026	99.85	/	/
	2.0326	9.5939	6.55	15.9202	98.61	/	/
	1.9922	9.4032	6.55	15.7886	98.87	/	/
	1.9875	9.3810	8.23	17.8937	101.61	/	/
	1.9981	9.4310	8.23	17.6115	99.72	/	/
人参皂苷	2.0023	8.7300	3.73	12.2210	98.0816	98.9478	1.89
Rb1	2.1024	9.1665	3.73	12.3124	95.4711	/	/
	2.0326	8.8621	5.02	13.9011	100.1366	/	/
	1.9922	8.6860	5.02	13.7049	99.9920	/	/
	1.9875	8.6655	7.50	16.1544	99.9313	/	/
	1.9981	8.7117	7.50	16.2237	100.0739	/	/

3 讨论

通过本文的 HPLC 梯度洗脱方法,有效、准确、快速的测定化淤生骨胶囊中的人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 的含量。此方法分离效果良好,分析时间短,洗脱完全,重复性良好,专属性较高,对后续实验样品的含量测定提供了方法依据和基础。

参考文献:

[1]朱秋.HPLC 法测定西洋参不同部位中人参皂苷含量[J].亚太传统医药,2015,11(19):23-24.
 [2]郑宏,谷泉,王蕾,等.HPLC 测定竹节参中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 含量[J].中国中医药信息杂志,2015(10):74-76.
 [3]徐鹏,冯素香,赵迪,等.HPLC-ELSD 法测定血塞通注射液

中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、Re、Rb1、Rd [J]. 中成药, 2013,35(3):521-524.

[4]朱会宇,吴丹妮,汪海林.高效液相色谱法测定细胞内三磷酸腺苷及其代谢物的含量[J].色谱,2017,35(1):54-58.

[5]王传,刑蓉,王斌.HPLC 法测定通心络颗粒剂中人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb1 的含量 [J]. 海峡药学, 2014,26(2):77-78.

[6] 宋杰, 李俊, 李伟琪.HPLC 法测定消痰胶囊中人参皂苷 Rg1、Rb1 和三七皂苷 R1 的含量 [J]. 山东中医药大学学报, 2014(5):492-494.

收稿日期:2018-6-4;修回日期:2018-6-24

编辑/李桦