

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

刘婷,徐虹

(浙江省舟山市食品药品检验检测研究院,舟山 316021)

摘要 **目的** 建立超高效液相色谱法同时快速测定参麦注射液中 6 种人参皂苷成分含量的方法。**方法** 采用 Aglient Eclipse plus C₁₈(2.1 mm×50 mm,1.8 μm)为色谱柱,以乙腈(A)-水(B)为流动相梯度洗脱,流速 0.3 mL·min⁻¹,检测波长 203 nm,柱温 25 ℃,进样量 0.5 μL。**结果** 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd 在 15 min 内出峰,色谱峰之间具有良好的分离度;并且分别在 0.035 9~0.448 8,0.028 3~0.353 5,0.036 8~0.460 5,0.026 5~0.331 5,0.019 1~0.238 9,0.028 5~0.355 8 mg·mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系($r>0.999$);平均加样回收率分别为 99.26%,99.06%,101.81%,99.50%,98.60%,100.47%($n=6$)。**结论** 该方法分析时间短,分离效能好,可用于快速高效测定参麦注射液中 6 种皂苷类成分的含量。

关键词 参麦注射液;人参皂苷 Rg₁;人参皂苷 Re;人参皂苷;含量测定

中图分类号 R286;R927.1

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2016)11-1259-03

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.0.24

参麦注射液由红参和麦冬提取制成,具有益气固脱、养阴生津、生脉的作用。用于治疗气阴两虚型之休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺源性心脏病、粒细胞减少症,能提高肿瘤患者免疫机能,与化疗药物合用有一定增效作用,为临床常用中药注射品种之一^[1]。人参皂苷是参麦注射液主要活性成分之一,现行质量标准是国家药品标准 WS₃-B-3428-98-2010^[2],对 3 种人参皂苷(Rg₁、Re、Rb₁)的含量测定采用高效液相色谱(HPLC)法,乙腈(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱,分析时间为 95 min,且人参皂苷 Rg₁和 Re,人参皂苷 Rb₁和相邻峰的分离度较小,对色谱柱性能要求很高。笔者在本实验中采用超高效液相色谱(UPLC)法具有高分辨率、高灵敏度、分析时间短、节约试剂等优点^[3-4],分析时间缩短了 75 min,并可同时测定 6 种人参皂苷成分(Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd),且相邻色谱峰之间的分离度良好,可为参麦注射液质量标准的提高提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Aglient 1290 infinity 超高效液相色谱仪(美国安捷伦公司,包括 G1314E 可见紫外检测器, G1316C 柱温箱, G4226A 自动进样器, G4220B 二元泵, ChemStation 化学工作站); Sartorius CPA225D 电子天平(赛多利斯科学仪器股份公司,感量:0.01 mg)。

1.2 试剂 人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、

人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 Rd 对照品(批号分别为 110703-201027, 110754-201324, 110704-201424, 111715-200802, 111818-201001, 含量分别为 96.3%, 92.7%, 93.7%, 94.8%, 94.4%)均购于中国食品药品检定研究院,人参皂苷 Rc 对照品(批号:PS0903FA1S, 含量:98%)购于上海源叶生物科技有限公司;乙腈为色谱纯(美国 TEDIA 试剂公司),实验用水为超纯水。参麦注射液(雅安三九药业有限公司,批号:150301010, 150504010, 150505010)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

2.1.1 混合对照品储备溶液 取人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc、Rb₂、Rd 对照品适量精密称定,置 10 mL 量瓶中,加 20%乙腈溶解并稀释至刻度,制成浓度分别为 1.795, 1.414, 1.842, 1.326, 0.955 6, 1.423 mg·mL⁻¹混合对照品储备溶液。

2.1.2 混合对照品溶液 精密吸取“2.1.1”项混合对照品储备溶液 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 置 10 mL 量瓶,加 20%乙腈至刻度,制成混合对照品溶液 1~6[#]。

2.2 供试品溶液的制备 取参麦注射液适量,用孔径 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 色谱条件 色谱柱: Aglient Eclipse plus C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.8 μm); 流动相为乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~8 min, 19% A; ~15 min, 19% A→40% A); 流速: 0.3 mL·min⁻¹; 检测波长: 203 nm; 柱温: 25 ℃; 进样量: 0.5 μL^[5-6]。

在上述色谱条件下,6 种皂苷成分与相邻峰的分离度均>1.5,理论板数按人参皂苷 Rg₁峰计算大于

收稿日期 2016-04-15 **修回日期** 2016-05-20

作者简介 刘婷(1990-),女,浙江舟山人,药师,学士,主要研究方向:药物质量分析和研究。E-mail: zssyiliuting@163.com。

5 000,对照品和供试品色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察 取“2.1.2”项 1~6[#]混合对照品溶液,按“2.3”项下谱条件测定。以浓度为横坐标(*X*),相应的峰面积为纵坐标(*Y*),绘制标准曲线。见表 1。

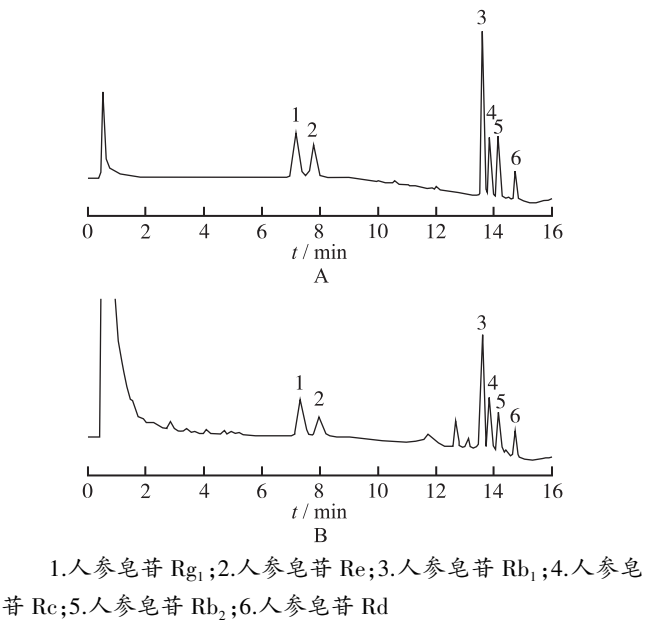


图 1 对照品(A)与样品(B)UPLC 图

表 1 线性关系结果

化合物名称	线性回归方程	线性范围/ (mg · mL ⁻¹)	<i>r</i>
人参皂苷 R _{g1}	<i>Y</i> = 274.0 <i>X</i> + 0.260 6	0.035 9~0.448 8	0.999 8
人参皂苷 Re	<i>Y</i> = 270.9 <i>X</i> + 0.259 3	0.028 3~0.353 5	0.999 8
人参皂苷 R _{b1}	<i>Y</i> = 401.6 <i>X</i> - 0.426 3	0.036 8~0.460 5	0.999 9
人参皂苷 Rc	<i>Y</i> = 361.6 <i>X</i> + 2.865	0.026 5~0.331 5	0.999 7
人参皂苷 R _{b2}	<i>Y</i> = 344.5 <i>X</i> + 0.985 0	0.019 1~0.238 9	0.999 7
人参皂苷 Rd	<i>Y</i> = 175.7 <i>X</i> + 1.261	0.028 5~0.355 8	0.999 6

2.5 精密度实验 取“2.1.2”项下 4[#]混合对照品溶液,按“2.3”项色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g1}、Re、R_{b1}、Rc、R_{b2}、Rd 峰面积的 RSD (*n* = 6) 分别为 0.89%, 0.87%, 0.81%, 1.2%, 1.5%, 1.6%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性实验 取同一批号参麦注射液样品(批号:150301010),按“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.3”项色谱条件进样,记录峰面积。按外标法以峰面积计算含量,结果样品中人参皂苷 R_{g1}、Re、R_{b1}、Rc、R_{b2}、Rd 的平均含量分别为 0.321, 0.176, 0.314, 0.150, 0.124, 0.164 mg · mL⁻¹, RSD (*n* = 6) 分别为 1.1%, 1.4%, 1.1%, 1.2%, 1.6%, 1.8%, 表明方法重复性良好。

2.7 稳定性实验 取同一批号参麦注射液样品(批号:150301010),用微孔滤膜过滤后,按“2.3”项下色谱条件,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 进行测定,记录峰面积。结果人参皂苷 R_{g1}、Re、R_{b1}、Rc、R_{b2}、Rd 峰面积的 RSD (*n* = 7) 分别为 1.2%, 1.3%, 1.1%, 1.1%, 1.2%, 1.6%, 表明供试品溶液中 6 种皂苷成分在室温条件下 24 h 内基本稳定。

2.8 加样回收率实验 精密吸取已知含量的样品(批号:150301010) 1 mL,共 6 份,精密加入 4[#]混合对照品 1 mL,混合均匀,用微孔滤膜过滤后,按“2.3”项下色谱条件进样,结果见表 2。

表 2 6 种人参皂苷加样回收率实验结果 *n* = 6

成分	原有量	加入量	测得量	平均回收	RSD/
	mg			率/%	%
R _{g1}	0.321	0.269	0.588	99.26	1.0
Re	0.176	0.212	0.386	99.06	1.4
R _{b1}	0.314	0.276	0.595	101.81	0.8
Rc	0.150	0.199	0.348	99.50	1.5
R _{b2}	0.124	0.143	0.265	98.60	1.8
Rd	0.164	0.213	0.378	100.47	2.0

2.9 样品含量测定 取 3 批参麦注射液,用微孔滤膜过滤后,按“2.3”项下色谱条件进样,以外标法计算样品中 6 种皂苷类成分的含量,结果见表 3。

表 3 参麦注射液中 3 种皂苷成分含量测定结果

批号	mg · mL ⁻¹					
	R _{g1}	Re	R _{b1}	Rc	R _{b2}	Rd
150301010	0.321	0.176	0.314	0.150	0.124	0.164
150504010	0.330	0.182	0.322	0.160	0.142	0.170
150505010	0.328	0.180	0.330	0.156	0.130	0.154

3 讨论

3.1 色谱条件的选择研究

3.1.1 流动相比比例的选择 笔者在本实验选取人参皂苷 R_{g1}、Re、R_{b1}、Rc、R_{b2}、Rd 为指标性成分,对参麦注射液进行含量测定。由于 6 种皂苷类成分结构相似,分离困难,为达到较好的分离效果,实验采用梯度洗脱^[7-9]的方法,对洗脱梯度进行优化,优化比较后确定“2.3”项下色谱条件进行测定。

3.1.2 柱温的影响 考察了柱温 10, 15, 20, 25, 30, 35 ℃ 对分离度的影响,结果表明柱温低于 30 ℃ 时,6 种人参皂苷的分离度较好。考虑到温度低柱压会升高,为保护色谱柱在合理的压力范围内,选择柱温为

25 ℃。

3.1.3 流速的影响 考察流速 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL · min⁻¹ 对分离度的影响, 结果表明流速过高或者过低, 6 种人参皂苷与相邻峰的分离度均达不到要求。在 0.3 mL · min⁻¹ 时分离度最佳。故选择流速为 0.3 mL · min⁻¹。

3.2 与 HPLC 法比较 考察该法与 HPLC 法 6 种皂苷类成分的含量的测定结果, 两者数据基本相同。但样品的分析时间缩短了 75 min, 该法既提高检测速度和灵敏度, 又降低了有机溶剂的消耗量, 适用于含人参制剂中 6 种皂苷类成分含量的快速测定。

参考文献

- [1] 曹树萍, 聂黎行, 王钢力, 等. UPLC 法用于参麦注射液及其中间体的皂苷含量研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(7): 1264-1268.
- [2] 国家食品药品监督管理局国家标准 WS3-B-3428-98-2010 [S]. 2010.
- [3] 郭利群, 吴娜, 张洪, 等. 超高效液相色谱法测定参麦注射液中间产品中的人参皂苷 R_{g1}, Re 和 R_{b1} [J]. 理化检验-化学分册, 2015, 51(9): 936-939.
- [4] 朱粉霞, 丁淑敏, 陈斌, 等. UPLC 法同时测定脉络宁注射液中 8 种有机酸[J]. 中成药, 2013, 35(7): 1449-1452.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 374-377.
- [6] 郝海群, 雷洋. 高效液相色谱法测定不同厂家参麦注射液中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量[J]. 河南中医, 2015, 35(6): 1445-1447.
- [7] 罗峰, 崔永霞, 沈晓明, 等. 超高效液相色谱法测定复方丹参片中三种皂苷类成分的含量[J]. 中医学报, 2015, 30(4): 551-553.
- [8] 谢耀轩, 林亚珠. 超高效液相色谱法测定三七中人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 和三七皂苷 R₁ 的含量[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(5): 489-492.
- [9] 马双成. 药品检测新技术从 HPLC 到 UHPLC [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 92-94.

2016 年中国临床合理用药大会顺利召开

2016 年 9 月 20 日—22 日, 在国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局指导下, 由中国医药教育协会、中国医药教育协会临床合理用药专业委员会主办, 华中科技大学同济医学院附属同济医院承办的 2016 年中国临床合理用药大会在武汉顺利召开。本次大会的主题为: 提升药学服务能力, 着力临床合理用药。大会由主论坛与六个分论坛组成。分论坛内容包括合理用药与药学服务、药师服务技能培训(上半场)、基因检测与个体化用药、药师价值研讨与学习型团队建设、药师服务技能培训(下半场)、循证药学与药物流行病学等。

中国医药教育协会会长、临床合理用药专业委员会主任委员黄正明, 中国医药教育协会名誉会长、国家食品药品监督管理总局原副局长张文周, 中国医药教育协会副会长李伟泉(中国台湾), 中国医药教育协会副秘书长李世俊, 华中科技大学副校长陈建国, 华中科技大学同济医学院附属同济医院副院长刘继红, 湖北省卫生和计划生育委员会副主任阮力艰, 湖北省卫生和计划生育委员会药政处副处长陈凡军, 湖北省卫生和计划生育委员会医政医管处调研员何辉, 湖北省卫生和计划生育委员会人事处处长王璐, 湖北省基本药物采购中心主任肖作太, 国家食品药品监督管理总局药品审评中心统计与临床药理学部部长杨进波, 湖北省食品药品监督管理局副局长金勇, 中华医学会临床药学会分会候任主任委员赵杰, 中国药学会副秘书长陈兵等领导出席大会开幕式。开幕式上, 黄正明会长、陈建国副校长、刘继红副院长、阮力艰副主任、金勇副局长等先后致辞。中国医药教育协会临床合理用药专业委员会进行了临床合理用药示范基地授牌仪式, 此外还进行了临床合理用药分委会授牌仪式。

主论坛专题讲座中, 中国药学会副秘书长陈兵从全球药理学发展视角提出了药学教育改革的必要性, 并介绍了药学教育改革的相关专家共识, 为我国药学教育改革提供了重要参考; 国家食品药品监督管理总局药品审评中心统计与临床药理学部部长杨进波解读了国家药品审评审批相关政策, 对我国开展药物临床试验数据自查核查、新药创新、药品质量和疗效一致性评价进行了详细介绍; 中华医学会临床药学会分会候任主任委员赵杰介绍了大数据与医学相结合的创新理念, 就大数据背景下医疗大数据如何应用进行了深入的思考和展望; 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部主任丁玉峰教授从医药卫生改革与医院药事管理创新角度介绍了医院药事服务内涵和挑战; 安徽省立医院药剂科主任药师屈建对我国医院药学科 30 余年来发展历程进行了回顾, 并对今后发展进行了展望。2016 年 9 月 21 日下午至 9 月 22 日上午, 六个分论坛依次拉开帷幕。

本次大会响应全国卫生与健康大会、健康中国 2030、国家基本药物政策等规划纲要精神, 旨在推广合理用药和促进大众健康。会议形式多样、内容丰富, 吸引了来自全国 20 多个省市 700 余位参会代表, 促进了我国医院药师在临床合理用药领域的交流。

(供稿: 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部 张文婷)