

# 反相高效液相色谱法测定 含红参组方注射液中人参皂苷 3 组分含量

韩江敏, 林能明, 芦柏震, 方 罗

(浙江省肿瘤医院药剂科, 杭州 310022)

**[摘要]** 目的 测定不同含红参组方注射剂中人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 的含量。方法 采用反相高效液相色谱法进行梯度洗脱, 色谱条件: 汉邦 Lichrospher C<sub>18</sub> 色谱柱; 流动相 A 为水, 流动相 B 为乙腈; 流速为 1.2 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 203 nm; 柱温 35 ℃。结果 人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 在 4~400, 4~400 和 8~800 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内峰面积与其浓度具有良好的线性关系。平均加样回收率分别为 97.10%~108.91% (人参皂苷 Rg1), 94.78%~103.00% (人参皂苷 Re), 和 102.71%~106.83% (人参皂苷 Rb1)。结论 该方法简便、快速、准确, 可同时测定含红参组方注射剂中人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 的含量。

**[关键词]** 人参皂苷 Rg1; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb1; 红参; 含量测定

**[中图分类号]** R286; R927.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2007)05-0545-02

人参是一种传统的名贵中草药, 有滋补、强壮、抗疲劳、扩血管、甚至抗癌等多方面的药理作用和生物活性, 可单独服用或与其他中草药组成复方制剂。人参皂苷是人参的主要活性成分, 共有 20 多种。最常见的有 Rg1、Re、Rb1、Rb2、Rc、Rd 6 种。笔者在本实验中采用 HPLC 法测定不同红参组方注射剂中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量, 方法简便、快速、准确, 适用于含红参组方注射剂中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量测定。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪, 包括四元泵、真空脱气泵、自动进样器、柱温箱、可变波长检测器、数据处理工作站; Sartorius BS 224S 电子分析天平; Heraeus 低温高速离心机。人参皂苷 Rg1 对照品(供含量测定用, 批号: 110703-200322), 人参皂苷 Re 对照品(供含量测定用, 批号: 110754-200320), 人参皂苷 Rb1 对照品(供含量测定用, 批号: 110704-200318)均由中国药品生物制品检定所提供。红参注射液, 商品名: 神威注射液, 河北神威药业有限公司生产; 商品名: 参附注射液, 雅安三九药业有限公司生产; 商品名: 参麦注射液, 正大青春宝药业有限公司生产; 商品名: 生脉注射液, 江苏苏中制药厂。将上述 4 种药品随机编号为 A、B、C、D 进行含量测定。乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 样品的预处理** 精密量取样品 20 mL 置于分液漏斗中, 加乙醚 10 mL 洗涤, 水层用水饱和正丁醇溶液提取 5 次(10, 10, 8, 8, 8 mL), 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心, 取上清液 10 μL 进样分析。

**2.2 色谱条件** 色谱柱: 汉邦 Lichrospher C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 江苏淮阴汉邦科技有限公司), 检测波长:

203 nm, 柱温: 35 ℃, 流速: 1.2 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量: 10 μL。以水为流动相 A, 乙腈为流动相 B, 按表 1 进行二元梯度洗脱。

表 1 流动相洗脱梯度

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~30	84→82	16→18
30~35	82	18
35~65	82→60	18→40
65~70	60→0	40→100
70~75	0→84	100→16

## 2.3 线性关系考察

**2.3.1 对照品贮备液的制备** 精密称取人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 对照品约 20, 20 和 40 mg, 置于 10 mL 容量瓶, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得各人参皂苷对照品贮备液, 贮存于 4 ℃ 冰箱中。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 分别精密吸取 Rg1、Re 和 Rb1 人参皂苷对照品贮备液 20.0, 50.0, 100.0, 200.0, 500.0, 1 000.0, 1 500.0, 2 000.0 μL 置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 得相应的 Rg1、Re 和 Rb1 人参皂苷对照品溶液的系列浓度梯度。在上述色谱条件下, 分别进样 10 μL, 进行分析。以对照品峰面积为纵坐标, 对照品溶液的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程如下, 人参皂苷 Rg1:  $A = 2.9143C + 3.4408$ ,  $r = 0.9999$  (4~400 μg·mL<sup>-1</sup>); 人参皂苷 Re:  $A = 2.3194C + 4.9119$ ,  $r = 0.9999$  (4~400 μg·mL<sup>-1</sup>); 人参皂苷 Rb1:  $A = 2.8705C - 0.4886$ ,  $r = 0.9999$  (8~800 μg·mL<sup>-1</sup>)。峰面积与浓度均呈良好的线性关系。

**2.3.3 方法回收率与精密度** 按标准曲线制备项中对照品溶液的配制方法分别配制浓度为低、中、高的人参皂苷 Rg1 (4.0, 40.0, 400.0 μg·mL<sup>-1</sup>), 人参皂苷 Re (4.0, 40.0, 400.0 μg·mL<sup>-1</sup>), 人参皂苷 Rb1 (8.0, 80.0, 800.0 μg·mL<sup>-1</sup>) 对照品溶液各 5 份, 按标准曲线绘制方法操作处理, 计算方法回收率。结果低、中、高 3 种浓度的方法回收率分别为人参皂苷 Rb1 (94.59 ± 0.49)%, (101.16 ± 0.03)%, (99.74 ± 0.12)%; 人参皂苷 Re (98.88 ± 0.25)%, (100.82 ± 0.02)%, (99.96 ± 0.13)%; 人参皂苷 Rb1 (96.55 ± 0.48)%, (100.70 ± 0.09)%。

**[收稿日期]** 2006-08-17 **[修回日期]** 2006-09-20

**[作者简介]** 韩江敏(1954-), 女, 河北无极人, 主管药师, 主要从事医院药学工作。

**[通讯作者]** 林能明(1965-), 男, 浙江宁海人, 主任药师, 教授, 硕士生导师。电话: 0571-88122440, E-mail: lnm1013@163.com。

(99.93±0.06)% ( $n=5$ )。同法配制以上低、中、高浓度对照品溶液,同日各处理5批,计算日内RSD值分别为人参皂苷 Rb1 0.52%, 0.03% 和 0.12%, 人参皂苷 Re 0.25%, 0.02% 和 0.13%, 人参皂苷 Rg1 0.50%, 0.09% 和 0.06% ( $n=5$ )。以后隔日配制低、中、高浓度对照品溶液各1份,共测定5 d,计算得

表2 各注射剂中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 和总皂苷的含量测定结果 μg · mL<sup>-1</sup>,  $\bar{x} \pm s$

批号	人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb1	总皂苷
05012831	7.75 ± 0.32	3.98 ± 0.19	75.76 ± 2.57	87.48 ± 2.28
05012831	12.36 ± 0.17	4.26 ± 0.18	93.80 ± 5.58	110.43 ± 5.65
050503	69.13 ± 2.18	35.29 ± 1.43	70.15 ± 2.73	174.57 ± 6.20
050902	69.16 ± 4.56	35.86 ± 2.87	68.71 ± 4.98	173.74 ± 11.79
0508291	106.85 ± 5.26	48.75 ± 1.70	144.31 ± 9.39	299.96 ± 16.14
0504143	122.38 ± 3.45	50.88 ± 3.52	180.58 ± 4.19	353.84 ± 10.31
05070304	178.52 ± 7.95	75.89 ± 3.11	266.37 ± 8.56	520.78 ± 19.59
05080203	148.82 ± 7.07	64.03 ± 3.91	203.54 ± 12.42	416.39 ± 23.33

2.5 加样回收率实验 根据“2.4”项下测得的各注射液中人参皂苷的含量,配制人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 浓度为原注射液浓度80%,100%和120%标准溶液10 mL,再分别加入相应注射液10 mL,混匀,得加样回收溶液,按“样品预处理”方法处理,取上清液10 μL 进行分析,并计算方法的加样回收率。结果见表3 ( $n=3$ )。

表3 加样回收率实验结果 %,  $\bar{x} \pm s$

红参组方注射液	加入浓度	人参皂苷 Rg1	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb1
A	80%	100.64 ± 4.00	101.85 ± 5.47	105.45 ± 2.65
	100%	101.50 ± 3.20	98.25 ± 2.79	103.97 ± 2.55
	120%	97.10 ± 1.45	100.68 ± 3.66	104.92 ± 1.91
B	80%	102.67 ± 4.28	100.65 ± 3.99	103.04 ± 6.87
	100%	106.79 ± 1.54	97.22 ± 2.81	106.62 ± 2.94
	120%	101.92 ± 3.28	94.78 ± 2.07	106.49 ± 2.91
C	80%	105.85 ± 1.11	98.05 ± 3.72	104.96 ± 1.19
	100%	105.48 ± 2.48	101.17 ± 1.95	102.71 ± 3.06
	120%	108.15 ± 1.92	96.94 ± 3.01	106.23 ± 2.57
D	80%	104.36 ± 1.94	98.67 ± 3.67	102.98 ± 2.37
	100%	108.91 ± 1.74	98.84 ± 2.40	106.83 ± 2.46
	120%	103.45 ± 3.06	103.00 ± 4.68	104.11 ± 3.55

3 讨论

人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 为红参的主要活性成分,对神经系统、心血管系统、免疫系统均具有一定活性,且作用特点各不相同<sup>[1-4]</sup>。目前市场上含红参组方注射剂较多,而人参皂苷的含量测定方法文献报道较多的为单体皂苷和总皂苷的含量测定,鲜见同时测定两种以上人参皂苷含量的方法,测定方法主要有可见-紫外分光光度法<sup>[5]</sup>、薄层扫描法<sup>[6]</sup>、高效液相色谱法<sup>[7]</sup>、高效液相-质谱法<sup>[8]</sup>。但以上方法要么灵敏度一般,要么分离度不佳,难以同时测定多种皂苷,要么分析时间太长,要么设备昂贵不能普及应用。

笔者在本实验中建立了同时测定多种含红参组方注射剂中

日间RSD值分别为人参皂苷 Rb1 1.53%, 0.98% 和 1.37%, 人参皂苷 Re 0.56%, 0.78% 和 1.03%, 人参皂苷 Rg1 1.89%, 1.36% 和0.97% ( $n=5$ )。

2.4 样品含量测定 精密量取各样品20 mL,按“样品预处理”方法处理,取上清液10 μL 进行分析,结果如表2 ( $n=3$ )。

人参皂苷 Rg1、Re 和 Rb1 含量的高效液相色谱法,流动相采用梯度洗脱,在确保分离度的前提下,大大缩短了分析时间,方法简便、快速、准确,适用于含红参组方注射剂中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量测定。

在色谱条件摸索过程中,笔者比较了C<sub>18</sub>(250 mm、150 mm)柱和氨基柱(250 mm、150 mm),发现C<sub>18</sub>(250 mm)柱分离度较好。采用二元梯度洗脱缩短样品分析时间,提高了分离度,减少杂质的干扰。笔者也发现色谱峰对柱温和流速的改变较敏感,以柱温为35℃,流速为1.2 mL · min<sup>-1</sup>时最佳。

本实验中也发现,不同厂家含红参组注射剂中各人参皂苷含量差异较大,这可能与处方工艺和药材质量有关。同厂家不同批次的产品含量亦有较大波动。

【参考文献】

[1] 徐皓亮,刘宛斌,饶曼人. 人参三七皂苷 Rg1 对实验性血栓形成的影响及其机制探讨[J]. 药学报,1997,32(7):502-505.  
[2] HELMS S. Cancer prevention and therapeutics; Panax ginseng[J]. Altern Med Rev,2004,9(3):259-274.  
[3] WANG X Y, CHENG J, ZHANG J T. Effect of ginsenoside Rg1 on learning and memory impairment induced by β- AP and its mechanism of action[J]. Acta Pharm Sin, 2001,36(1):1-4.  
[4] 王天成,张宏艳. 人参皂苷抗心律失常作用研究进展[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2004,18(4):309-310.  
[5] 何克江,韩蔚,栾宏伟,等. 纯化和分光光度法检测联用的人参总皂苷简易测定方法[J]. 药物分析杂志,2003,23(4):284-289.  
[6] 张中苏,杨艳,罗晋萍,等. 薄层扫描法测定龟龄集中人参皂苷 Rg1 的含量[J]. 药物分析杂志,1999,19(1):13-15.  
[7] 吴永江,崔勤敏,程翼宇. 制备工艺对参麦注射液质量的影响[J]. 中国中药杂志,2005,30(9):662-665.  
[8] 肖盛元,罗国安,王义明,等. LC/MS 鉴定中药三七及其复方制剂[J]. 药学报,2004,39(2):127-131.