

高效液相色谱法测定黄芪三七口服液中人参皂苷 Rb₁ 的含量

陈碧莲¹, 何云珍¹, 戴德雄², 杜君美² (1. 浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310014; 2. 浙南药业有限公司, 浙江丽水 323000)

摘要:目的 建立黄芪三七口服液中人参皂苷 Rb₁ 含量测定的方法。方法 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 乙腈-0.1% 磷酸溶液(30:70)为流动相; 检测波长为 210nm; 柱温 40℃, 流速 1mL/min。结果 人参皂苷 Rb₁ 进样量在 0.3604~7.208μg 范围内与峰面积有良好的线性关系, $r=1.0000$, 平均回收率为 99.5%, RSD 为 2.4% ($n=6$)。结论 此含量测定方法简便、可靠、重现性好, 可作为黄芪三七口服液含量测定的方法。

关键词: HPLC 法; 黄芪三七口服液; 人参皂苷 Rb₁

Determination of ginsenoside Rb₁ in Huangqishanqi oral solution by HPLC

CHEN Bi-lian¹, HE Yun-zhen¹, DAI De-xiong², DU Jun-mei² (1. Zhejiang Provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Zhenan Pharmaceutical Co. Ltd., Lishui 323000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of Ginsenoside Rb₁ in Huangqishanqi oral solution.

METHOD A Agilent Extend reversed-phase C18 analytical column (150mm×4.6mm I.D., 5μm) was utilized at a column temperature of 40℃. The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (30:70). The detection wavelength was 210nm.

RESULTS The calibration curve showed good linearity over the range of 0.3604~7.208μg ($r=1.0000$). The average recovery was 99.5% and the relative standard deviation was 2.4% ($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, and accurate with a good reproducibility and can be used as quantitative analysis method for Huangqishanqi oral solution.

KEY WORDS: HPLC; Huangqishanqi oral solution; Ginsenoside Rb₁

黄芪三七口服液主要由黄芪、三七等药味组成, 其中皂苷类成分为主要有效成分, 采用溶剂提取净化样品液, 用 HPLC 法测定三七中含量较高的人参皂苷 Rb₁, 以控制样品的质量, 方法可靠, 重现性好。

1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪 (G1322A 脱气机、G1313A 自动进样仪、G1316A 柱温箱、G1314A 紫外检测器; 岛津 UV-260 紫外分光光度计。人参皂苷 Rb₁ 对照品, 由中国药品生物制品检定所提供, 为含量测定用。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余为分析纯。样品由浙江丽水浙南药业有限公司提供。

2 实验方法与结果

2.1 测定波长的选择

取人参皂苷 Rb₁ 对照品适量, 加甲醇制成对照品溶液, 置紫外分光光度计下记录其紫外吸收光谱, 结果显示, 人参皂苷 Rb₁ 在紫外区无特征吸收峰, 故选择末端吸收处的 203nm 作为测定波长。

2.2 色谱条件

色谱柱: 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (30:70) 为流动相; 检测波长为 203nm; 柱温为 40℃。在此条件下人参皂苷 Rb₁ 能与相邻峰得到较好分离结果见图 1、图 2。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 Rb₁ 对照品适量, 加甲醇制成每 1mL

中含 0.36mg 的溶液。

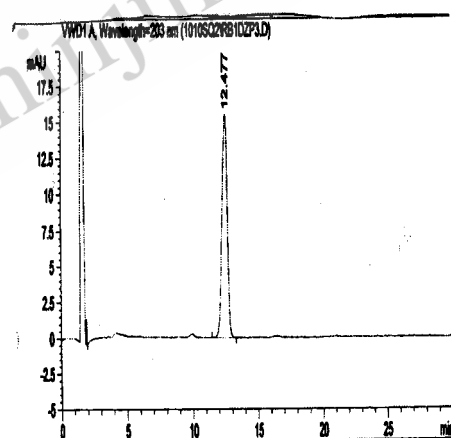


图 1 对照品色谱图

2.4 供试品溶液的制备

精密量取本品 5mL, 用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 10mL, 合并正丁醇层, 用正丁醇饱和的水 25mL 洗涤 1 次, 正丁醇层蒸干, 用甲醇定量转移置 10mL 量瓶中, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.5 线性关系考察

精密量取人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 (0.3604mg/mL) 1、2、3、5、10μL 及人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 (1.802mg/mL) 3、4μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积 Y, 以峰面积为纵坐标 (Y), 人参皂苷 Rb₁ 进样量为横坐标 (X), 以最小二乘法计算

得回归方程 $Y = 250.10427X - 7.15778$, $r^2 = 0.99995$, 显示进样量在 $0.3604 \sim 7.208 \mu\text{g}$ 范围内有良好的线性关系。

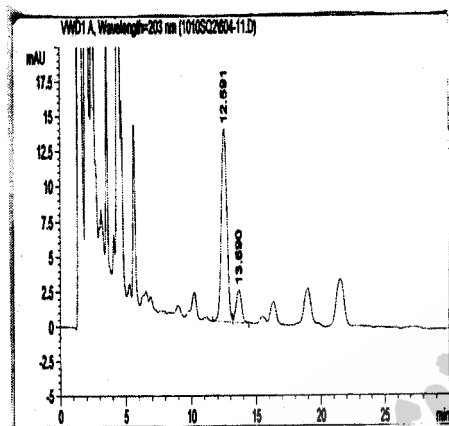


图2 供试品色谱图

2.6 进样精密度和样品重现性试验

取供试品溶液,按以上色谱条件,重复进样6次,测定峰面积,结果RSD为0.35%($n=6$);对一样品按拟定的方法作多次测定,其含量相对标准偏差为1.8%($n=6$)。

2.7 稳定性试验

从0~44h,取供试品溶液,按以上色谱条件,每隔一定时间进样1针,测定峰面积,结果RSD为2.0%,显示供试品溶液至少在44h内稳定。

2.8 回收率试验

精密量取已知含量样品6份,精密加入人参皂苷Rb₁对照品适量,按供试品溶液制备法制备,依法测定并计算,结果显示平均回收率为99.5%,RSD=2.4%。

2.9 空白试验

缺三七样品按拟定方法测定,结果在与对照品色谱相应位置处无色谱峰,见图3。

2.10 供试品中人参皂苷Rb₁含量的测定 按拟定方法测定六批样品,结果见表1

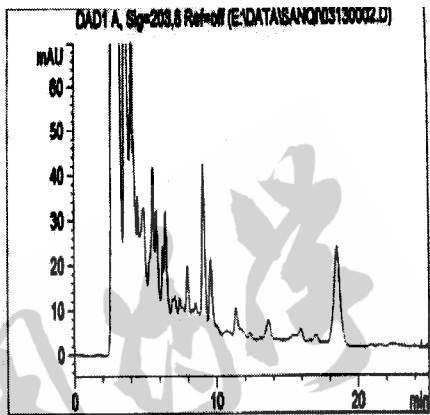


图3 空白样品色谱图

表1 样品含量测定结果

批号	含量(mg/mL)
20010604	0.67
20010605	0.69
20010606	0.69
20010715	0.66
20010716	0.76
20010718	0.68

3 讨论

3.1 曾采用水饱和和正丁醇萃取与大孔树脂纯化提取其皂苷类成分,经比较,以水饱和和正丁醇提取得率较高,故采用水饱和和正丁醇提取,且经试验,用水饱和和正丁醇提取四次,已能将人参皂苷Rb₁完全提尽。

3.2 柱温及不同品牌的色谱柱对供试品溶液的分离有较大影响,所以最好使用柱温箱,以保证稳定的保留时间和较好的分离度。

参考文献

[1] 郑虎占等主编. 中药现代研究与应用. 北京: 学苑出版社出版, 1996: 195.
[2] 王宝葵. 中成药质量标准与标准物质研究. 中国医药科技出版社, 1994.