西洋参中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的测定 高效液相色谱法

一、摘要

本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定西洋参中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的含量。其连续进样 7 针的峰面积的重复性完全满足 2020 年版《中国药典》的要求。

二、背景

西洋参具有补气养阴，清热生津。用于气虚阴亏，虚热烦倦，咳喘痰血，内热消渴，口燥咽干。西洋参为市场上较为常见的名贵药材，其主要的活性成分为皂苷类，如人参皂苷Re、人参皂苷Rb1等。在2020年版《中国药典》中规定了利用高效液相色谱法测定西洋参中人参皂苷Re、人参皂苷Rb1、人参皂苷Rg1的含量以控制药物的质量。

三、实验过程

1 范围

适用于西洋参中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 的测定

2 原理

人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 易溶于甲醇，在 203nm 处有紫外吸收，使用高效液相色谱法进行检测，外标法定量。

3 试剂与材料

3.1 水：符合 GB/T6682 的一级水；

3.2 乙腈：色谱纯；

3.3 磷酸：优级纯；

3.4 0.1%磷酸水溶液：吸取 1mL 磷酸用一级水定容至 1L，过 0.22μm 滤膜。

4 仪器与设备

4.1 高效液相色谱仪（悟空仪器 K2025）：配有紫外检测器；

4.2 分析天平：精确到 0.0001g；

5 测定步骤

5.1 样品前处理

客户提供处理后的样品

5.2 测定

5.2.1 色谱条件：

a）色谱柱: C18 4.6×250mm，5μm

b）流动相：A：乙腈；B：0.1%磷酸水溶液；

c）柱温：40℃；

d）进样量:10μL；

e）流速：1mL/min；

f）波长：203nm；

h）梯度洗脱程序见表 1：

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A% (乙腈）	B%（0.1%磷酸水溶液）
0	19	81
25	20	80
60	40	60
90	55	45
100	60	40
110	19	81
120	19	81

6 结果计算

人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 测定浓度 c，按公式（A.1）计算：

$$c = \frac{A \times c_i}{A_i} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots （A.1）$$

A_i---对照品峰面积；

A---供试品的峰面积（去除空白中的出峰）。

c_i ---对照品的浓度

7 色谱图及重复性结果

对照品参考色谱图如图 1

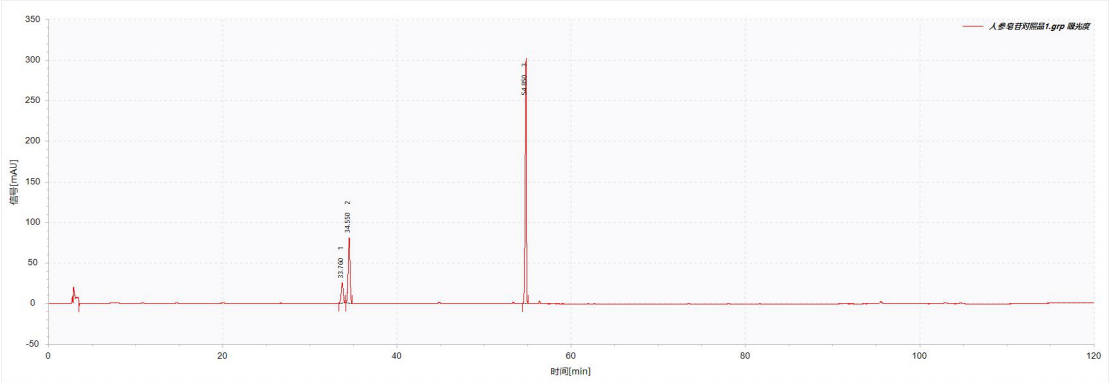

图 1.　对照品参考色谱图

对照品进样 7 针的色谱图叠加图如图 2

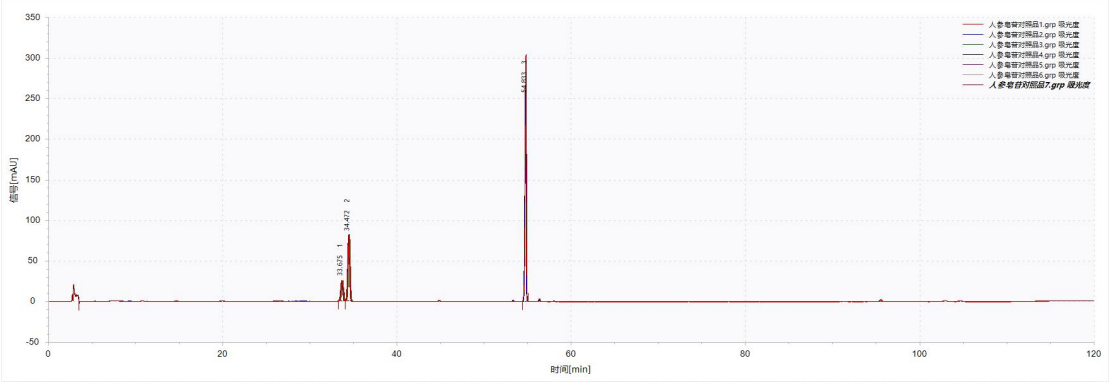

图 2.　进样 7 针对照品色谱图的叠加图

表 2 进样 7 针对照品重复性计算结果

峰 1 Rg1		对照品 1	对照品 2	对照品 3	对照品 4	对照品 5	对照品 6	对照品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	33.760	33.818	33.675	33.755	33.685	33.747	33.675	33.731	0.054	**0.161**
	峰面积	406.775	406.708	409.409	410.531	407.131	407.826	410.157	408.362	1.637	**0.401**
峰 2 Re		对照品 1	对照品 2	对照品 3	对照品 4	对照品 5	对照品 6	对照品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	34.550	34.602	34.470	34.542	34.482	34.532	34.472	34.521	0.049	**0.142**
	峰面积	1203.446	1205.585	1212.382	1214.792	1204.29	1206.646	1213.277	1208.631	4.700	**0.389**
峰 3 Rb1		对照品 1	对照品 2	对照品 3	对照品 4	对照品 5	对照品 6	对照品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	54.850	54.860	54.808	54.873	54.813	54.84	54.833	54.840	0.024	**0.043**
	峰面积	2855.097	2858.418	2876.438	2878.897	2856.686	2860.233	2877.542	2866.187	10.837	**0.378**

供试品参考色谱图如图 3

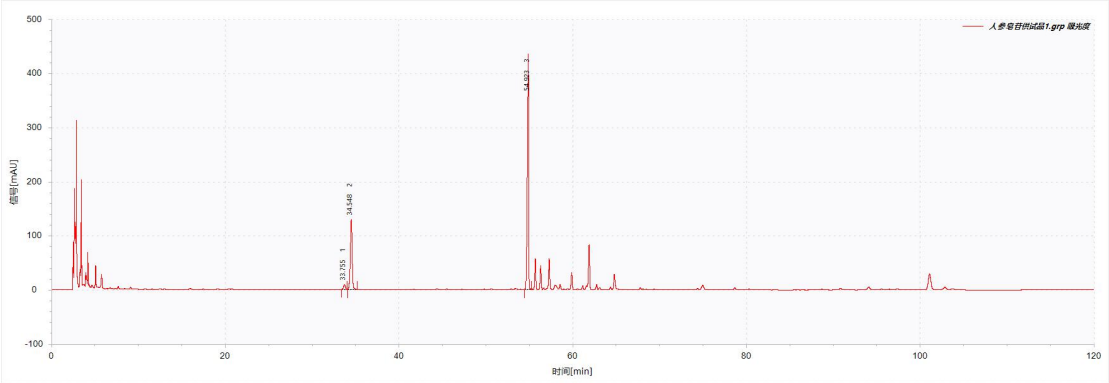

图 3　供试品参考色谱图

进样 7 针供试品色谱图叠加图如图 4

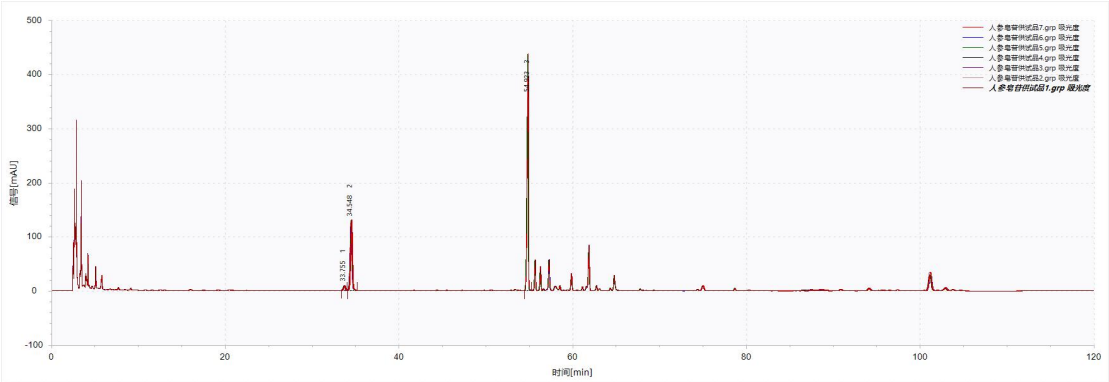

图 4　进样 7 针供试品色谱图叠加图

表 3 进样 7 针供试品重复性计算结果

峰 1 Rg1		供试品 1	供试品 2	供试品 3	供试品 4	供试品 5	供试品 6	供试品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	33.755	33.69	33.705	33.785	33.745	33.788	33.837	33.758	0.051	**0.150**
	峰面积	131.802	131.307	131.923	132.136	132.972	132.87	132.272	132.183	0.589	**0.446**
峰 2 Re		供试品 1	供试品 2	供试品 3	供试品 4	供试品 5	供试品 6	供试品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	34.548	34.487	34.5	34.57	34.535	34.587	34.622	34.550	0.048	**0.138**
	峰面积	1909.479	1914.707	1910.289	1912.251	1915.361	1918.142	1917.844	1914.010	3.453	**0.180**
峰 3 Rb1		供试品 1	供试品 2	供试品 3	供试品 4	供试品 5	供试品 6	供试品 7	平均值	SD	**RSD%**
	保留时间	54.923	54.895	54.87	54.895	54.87	54.918	54.907	54.897	0.021	**0.039**
	峰面积	4592.244	4604.912	4600.139	4605.279	4614.771	4623.34	4625.138	4609.403	12.166	**0.264**

8 结论

采用 wooking K2025 高效液相色谱仪对西洋参中的人参皂苷 Rb1、Rg1 、Re 进行测定，实验结果表明，在连续梯度洗脱条件的重复性，进样 7 针对照品 Rg1 保留时间的 RSD 为 0.161%，进样 7 针对照品 Re 保留时间的 RSD 为 0.142%，进样 7 针对照品 Rb1 保留时间的 RSD 为 0.043%，均小于 0.200%；进样 7 针对照品 Rg1 峰面积的 RSD 为 0.401%，进样 7 针对照品 Re 峰面积的 RSD 为 0.389%，进样 7 针对照品 Rb1 峰面积的 RSD 为 0.378%，均满足药典要求小于 2.0%。进样 7 针供试品 Rg1 保留时间 RSD 为 0.150%；进样 7 针供试品 Re 保留时间 RSD 为 0.138%；进样 7 针供试品 Rb1 保留时间 RSD 为 0.039%，均小于 0.200；进样 7 针供试品 Rg1 峰面积的 RSD 为 0.446%；进样 7 针供试品 Re 峰面积的 RSD 为 0.108%；进样 7 针供试品 Rb1 峰面积的 RSD 为 0.264%，均满足药典要求小于 2.0%。因此，使用 wooking K2025 的高效液相色谱仪测定西洋参中的人参皂苷 Rb1、Rg1、Re 有良好的重复性。