

- [6] 暴风伟, 刘玉强, 胡丽萍, 等. HPLC 波长切换法同时测定丹参酚酸提取物中 5 种成分[J]. 中成药, 2012, 12(34): 2368-2372.
- [7] 魏惠珍, 黄周华, 崔金国, 等. HPLC 法测定心可舒胶囊和心可舒片中丹酚酸 B[J]. 中草药, 2007, 8(38): 1196-1197.
- [8] 梅爱中, 陈柳娟, 戴德雄, 等. 高效液相色谱法测定丹七片中丹酚酸 B[J]. 中草药, 2008, 7(39): 1024-1025.

(编辑: 邓响潮)

## 千斤肾安宁胶囊中 5 种化学成分含量测定方法的建立

金晓敏<sup>1,2</sup>, 彭敏桦<sup>1</sup>, 任杰麟<sup>1</sup>, 吴依娜<sup>1</sup>, 李 耿<sup>1</sup>(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州王老吉大健康产业有限公司, 广东 广州 510440)

**摘要:** **目的** 应用核-壳色谱柱建立千斤肾安宁胶囊中淫羊藿苷、三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的高效液相色谱含量测定方法。**方法** 采用 Kinetex 核壳色谱柱(0.46 cm × 10 cm, 2.6 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~6 min: 19%A; 6~13 min: 19%~29%A; 13~18 min: 29%~40%A; 18~25 min: 40%~19%A); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 203 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。**结果** 淫羊藿苷、三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的线性范围分别为 3.2~32 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99985)、3.2~32 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99975)、11.0~110.0 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99995)、6.0~60.0 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99995)和 11.0~110.0 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99985), 平均加样回收率分别为 98.82%(RSD=0.46%)、97.08%(RSD=1.21%)、99.64%(RSD=0.13%)、98.69%(RSD=1.38%)和 98.68%(RSD=2.44%)。**结论** 该测定方法简便、准确, 重现性好, 可用于千斤肾安宁胶囊的质量控制。

**关键词:** 淫羊藿苷; 三七皂苷 R<sub>1</sub>; 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 核壳色谱柱

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)06-0740-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.023

### Establishment of Method for Determination of Five Components in *Qianjin Shen'anning* Capsule

JIN Xiaomin<sup>1,2</sup>, PENG Minhua<sup>1</sup>, REN Jieli<sup>1</sup>, WU Yina<sup>1</sup>, LI Geng<sup>1</sup>(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangzhou Wanglaoji Healthy Industry Co., Ltd., Guangzhou 510440 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for the content determination of icariin, notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Re and ginsenoside Rb<sub>1</sub> in *Qianjin Shen'anning* capsule by using core-shell chromatographic column. **Methods** The chromatographic separation was performed on Kinetex C<sub>18</sub> column (0.46 cm × 10 cm, 2.6 μm) using a mobile phase of acetonitrile(A) and water (B) at a flow rate of 1.0 mL/min. The gradient elution mode was as follows: 0~6 min, 19%A; 6~13min, 19%~29%A; 13~18 min, 29%~40%A; 18~25 min, 40%~19%A. The detection wavelength and column temperature were set at 203nm and 30°C. The injection volume was 20 μL. **Results** The linear range of icariin, notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Re and ginsenoside Rb<sub>1</sub> were 3.2~32 μg·mL<sup>-1</sup> (r=0.99985), 3.2~32 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99975), 11.0~110.0 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99995), 6.0~60.0 μg·mL<sup>-1</sup> (r=0.99995), 11.0~110.0 μg·mL<sup>-1</sup>(r=0.99985), respectively. The average recovery was 98.82%(RSD=0.46%), 97.08%(RSD=1.21%), 99.64%(RSD=0.13%), 98.69%(RSD=1.38%) and 98.68%(RSD=2.44%), respectively. **Conclusion** The established method is simple, accurate and repeatable, and can be used for the quality control of *Qianjin Shen'anning* capsule.

收稿日期: 2014-07-01

作者简介: 金晓敏, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药学。Email: 459634391@qq.com。通讯作者: 李耿, 博士, 副教授, 研究方向: 中药新药研究与开发。Email: lg@zucm.edu.cn。

**Keywords:** Icarin; Notoginsenside R<sub>1</sub>; Ginsenoside Rg<sub>1</sub>; Ginsenoside Re; Ginsenoside Rb<sub>1</sub>; Core-shell chromatographic column

千斤肾安宁胶囊主要由千斤拔、鹰不扑、淫羊藿、补骨脂、红参、三七、冬虫夏草、黄精、制何首乌、地黄、大黄等 14 味药材<sup>[1]</sup>组成, 具有补肾健脾, 利尿降浊的功能, 用于治疗慢性肾炎普通型(脾肾两虚证), 氮质血症期慢性肾功能不全等证<sup>[2]</sup>。方中千斤拔为君药, 具有补益肝肾之功; 淫羊藿温补肾阳, 红参补脾益肺、益肾培元、扶正祛邪, 以上臣药辅助君药补益脾肺肾; 而三七起活血化瘀、通经活络的作用。本方以调补脾肾、解毒活血、利水排浊作为治疗根本原则, 方中君臣佐使配伍合理, 补中有泻, 攻补结合, 共奏补益脾肾、活血化瘀、降浊排毒之功, 用于治疗脾肾亏虚、瘀毒内阻之证<sup>[3]</sup>。原千斤肾安宁胶囊标准只规定了淫羊藿苷的含量测定方法, 为了更好地控制其内在质量, 本研究引用核-壳色谱柱, 采用 HPLC 法同时测定主要活性成分淫羊藿苷、三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 日立 L2000 液相色谱仪, 天美(中国)科学仪器有限公司; Kinetex TM 2.6um C<sub>18</sub> 100A 核-壳色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.6 μm), 广州菲罗门科学仪器有限公司; Aquapro 艾科浦 U 系列纯水机、BS110S 型分析天平, 北京赛多利斯天平有限公司; RE-52AA 型旋转蒸发仪, 巩义予华仪器有限公司; KQ3200B 型超声清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; DHG-9145A 电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 家用万能粉碎机 FZ-230 型, 温岭市牧屿百乐机床厂。

**1.2 试剂及对照品** 千斤肾安宁胶囊, 批号: 20130911, 20130918, 20130925, 香港裕和药业有限

公司; 淫羊藿苷对照品(批号: 110737-200415)、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>(批号: 110703-201128)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>(批号: 110704-201223)、人参皂苷 Re(批号: 110754-201324)、三七皂苷 R<sub>1</sub>(批号: 110745-200617), 中国药品生物制品检定所; 乙腈为色谱纯试剂, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件**<sup>[4]</sup> Kinetex 核-壳色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.6 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~6 min: 19% A; 6~13 min: 19%~29% A; 13~18 min: 29%~40% A; 18~25 min: 40%~19% A); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 203 nm, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。在此色谱条件下, 色谱柱的理论塔板数按人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 峰计应不低于 6000, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和人参皂苷 Re 的分离度大于 1.5, 见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取淫羊藿苷、三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 适量, 加甲醇制成浓度分别为 0.16, 0.16, 0.55, 0.30, 0.55 mg·mL<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取千斤肾安宁胶囊内容物, 研细, 精密称取 3 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加 70% 乙醇 100 mL, 塞密, 称定质量, 超声处理 1 h, 再称定质量, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 0.2 mL, 注入预先用甲醇和水各 1 mL 处理好的以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的固定相小柱, 流出速度为 2 mL·min<sup>-1</sup>, 收集 0.5 mL 以后的流出液, 洗脱液蒸干, 精密吸取甲醇 0.4 mL 溶解即得<sup>[5]</sup>。

**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取 2.2 项下的对照品

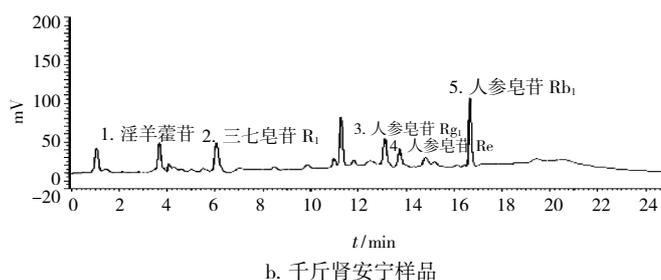
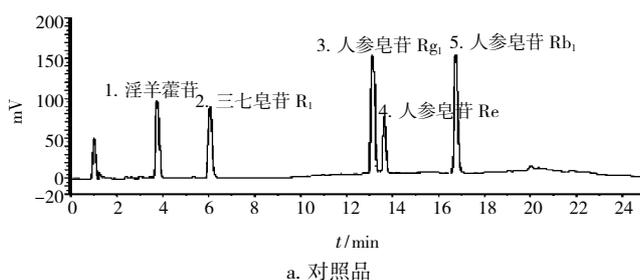


图 1 千斤肾安宁胶囊 HPLC 图

Figure 1 HPLC chromatogram of *Qianjin Shen'anning* capsule

溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得到不同浓度的对照品溶液。精密吸取对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$  进样, 按 2.1 项下色谱条件测定峰面积, 以峰面积( $Y$ )对浓度( $X$ )进行线性回归计算, 结果见表 1。

表 1 各对照品线性范围及线性回归方程

Table 1 Linear range and linear regression equation of the reference substance

组分	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回归方程	$r$
淫羊藿苷	3.2 ~ 32.0	$Y=1347.9X+287.99$	0.99985
三七皂苷 $R_1$	3.2 ~ 32.0	$Y=1141.1X+38.073$	0.99975
人参皂苷 $R_{g1}$	11.0 ~ 110.0	$Y=1177.9X-112.37$	0.99995
人参皂苷 $R_e$	6.0 ~ 60.0	$Y=11127.6X+1006.08$	0.99995
人参皂苷 $R_{b1}$	11.0 ~ 110.0	$Y=1322.5X-107.72$	0.99985

**2.5 精密度试验** 取对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 重复进样 6 次, 记录淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  的峰面积, 测得淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  的峰面积 RSD 分别为 0.25 %、0.64 %、0.39 %、0.25 %、0.36 %。结果表明, 仪器的精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批样品(批号: 20130911) 6 份, 按照供试品溶液的制备方法制备, 进样检测, 结果测得样品中淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  的平均含量分别为 1.44, 1.53, 1.64, 1.05, 2.57  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 0.23 %、0.57 %、0.32 %、0.24 %、0.15 %。结果表明该方法重现性良好。

**2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号: 20130911), 在上述色谱条件下, 分别在 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样, 每次进样 20  $\mu\text{L}$ , 测得淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  的 RSD 值分别为 0.19 %、0.75 %、0.28 %、0.11 %、0.28 %。结果表明, 供试品溶液中各成分含量在 24 h 内稳定。

**2.8 回收率试验** 取批号为 20130911 的千斤肾安宁粉末 6 份, 每份约 1 g, 精密称定, 分别加入含淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ , 人参皂苷  $R_e$  和人参皂苷  $R_{b1}$  的混合对照品溶液 3 mL, 按 2.3 项下供试品溶液的制备方法制备样品溶液, 测定并计算回收率和 RSD 值, 测得淫羊藿苷、三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$  和人参皂苷  $R_{b1}$  的平均回收率分别为 98.82 %、97.08 %、99.64 %、98.69%、98.68 %;

RSD 分别为 0.46 %、1.21 %、0.13 %、1.38 %、2.44 %。结果表明回收率符合规定, 提取方法可行, 检测灵敏度高。

**2.9 样品测定** 取 3 批千斤肾安宁样品(批号: 20130911、20130918、20130925), 每批取 2 份, 按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备, 精密吸取供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件测定, 结果见表 2。

表 2 3 批千斤肾安宁样品中各组分含量测定( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Table 2 The content determination results of 3 batches of samples

组分名称	批号	平均含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	每粒胶囊含量/mg
	20130911		
淫羊藿苷	20130918	$1.43 \pm 0.01$	0.72
	20130925		
	20130911		
三七皂苷 $R_1$	20130918	$1.54 \pm 0.03$	0.77
	20130925		
	20130911		
人参皂苷 $R_{g1}$	20130918	$1.63 \pm 0.02$	0.82
	20130925		
	20130911		
人参皂苷 $R_e$	20130918	$1.04 \pm 0.02$	0.52
	20130925		
	20130911		
人参皂苷 $R_{b1}$	20130918	$2.57 \pm 0.02$	1.28
	20130925		

由表 2 可知, 3 批产品中淫羊藿苷的含量为 1.43  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 三七皂苷  $R_1$  的含量为 1.54  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 人参皂苷  $R_{g1}$  的含量为 1.63  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 人参皂苷  $R_e$  的含量为 1.04  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 人参皂苷  $R_{b1}$  的含量为 2.57  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 因每粒千斤肾安宁的净质量为 0.5 g, 故千斤肾安宁每粒胶囊含淫羊藿苷 0.72 mg、三七皂苷  $R_1$  0.77 mg、人参皂苷  $R_{g1}$  0.82 mg、人参皂苷  $R_e$  0.52 mg、人参皂苷  $R_{b1}$  1.28 mg。

### 3 讨论

本研究分别就正丁醇萃取法、过大孔树脂提取法<sup>[6]</sup>和过固相萃取小柱提取法进行考察, 经比较, 正丁醇萃取法与对照品色谱图中相应出峰时间处检测到对应峰, 杂质比较多, 各相邻峰之间达不到基线分离, 分离度不合要求; 而以过大孔树脂和过固相萃取小柱测得的含量比较高, 各项色谱参数均符合要求, 但是过大孔树脂再用正丁醇萃取的纯化过程比较繁琐, 且所含杂质比较多, 因此确定纯化方法为过固相萃取小柱。

本研究应用 Kinetex  $C_{18}$  核-壳色谱柱, 分析时间

缩短为 25 min, 能极大地提高分析速度, 分离度变得更敏锐, 实际应用可减少溶剂等的消耗。

本研究通过高效液相色谱法对贵重药材的有效成分建立含量测定方法, 结果表明该法操作简便、快速、灵敏、重现性好, 可为该制剂的质量控制和标准提升提供科学依据<sup>[7]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 307-308.  
[2] 陈炳洪. 一种千斤肾安宁药物制剂及其制备方法[P]. 中国专利,

CN200510082772.5, 2005.12.28.

- [3] 赵润栓, 陈新政. 中医治疗慢性肾功能衰竭的思路探讨[J]. 现代中医药, 2003, (2): 9-11  
[4] 李耿, 任杰麟, 戴洁, 等. 应用核-壳色谱柱优化参须中人参皂苷含量测定方法研究[J]. 中药材, 2013, 36(1): 73-75.  
[5] 黎耀东, 卢君. HPLC 测定千斤肾安宁片中的人参皂苷 Rg1、Rb1 及三七皂苷 R1 的含量[J]. 中成药, 2008, 30(11): 1631-1634.  
[6] 郑继标, 陈丽莲. HPLC 法测定复方消脂胶囊中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 及三七皂苷 R1 的含量[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(11), 32-35.  
[7] 王峥涛. 中药质量标准研究进展与展望[J]. 中国天然药物, 2006, 4(6): 403-410.

(编辑: 邓响潮)

## HPLC 法测定颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量

曹纬国<sup>1,3,4</sup>, 陶燕铎<sup>2</sup>, 谈利红<sup>1</sup>, 颜学伟<sup>1</sup>, 余保<sup>1</sup>, 张丹<sup>1</sup>(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810000; 3. 重庆医科大学中医药研究室, 重庆 400016; 4. 重庆医科大学中医药实验教学中心, 重庆 401331)

**摘要:** 目的 利用高效液相色谱(HPLC)法, 建立颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量测定方法。方法 采用 Hypersil ODS2 C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1%磷酸梯度洗脱, 天麻素与芍药苷的检测波长分别为 220 nm 和 230 nm, 柱温为室温。结果 天麻素在 0.116~1.160 μg 进样量范围内线性关系良好, 平均加样回收率为 101.11%, RSD 为 2.51%; 芍药苷在 0.05~1.00 μg 进样量范围内线性关系良好, 平均加样回收率为 98.27%, RSD 为 1.64%。结论 该方法能简便、灵敏、准确的测定颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量, 可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** 颈眩口服液; 天麻素; 芍药苷; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)06-0743-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.024

### Determination of Gastrodin and Paeoniflorin in *Jingxuan* Oral Liquid by HPLC

CAO Weiguo<sup>1,3,4</sup>, TAO Yanduo<sup>2</sup>, TAN Lihong<sup>1</sup>, YAN Xuewei<sup>1</sup>, YU Bao<sup>1</sup>, ZHANG Dan<sup>1</sup>(1. Traditional Chinese Medicine College of Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China; 2. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000 Qinghai, China; 3. The Lab of Traditional Chinese Medicine of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Experimental Teaching Center for Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for simultaneous determination of gastrodin and paeoniflorin by high performance liquid chromatography in *Jingxuan* oral liquid. **Methods** The analysis was performed on Hypersil ODS2 C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The detection was with a mobile phase of acetonitrile-0.1 % phosphonic acid

收稿日期: 2014-05-05

作者简介: 曹纬国, 男, 副教授, 研究方向: 中药与天然药物研究与开发。Email: cwgzd2001@sohu.com。通讯作者: 张丹, 副教授, 研究方向: 中药资源开发与利用。Email: zhangdan01234567@sina.com。

基金项目: 国家“十一五”国家科技支撑计划(2007BA145B00); 重庆市卫生局科研项目(2010-2-146)。