

# HPLC法同时测定参附注射液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>的含量

陈开杰\*(重庆市肿瘤研究所,重庆 400030)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)40-3827-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.40.27

**摘要** 目的:建立同时测定参附注射液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),检测波长为203 nm,流速为1 ml/min,柱温为40 ℃,进样量为10 μl。结果:人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>进样量分别在3.247~16.235、2.536~12.608 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.57%;平均加样回收率分别为99.69%、99.15%,RSD分别为2.32%、2.71%( $n=6$ )。结论:该方法准确可靠、简单快捷,可用于不同规格参附注射液的质量评价。

**关键词** 人参皂苷Rg<sub>1</sub>;人参皂苷Rb<sub>1</sub>;参附注射液;高效液相色谱法;含量测定

## Simultaneous Determination of Ginsenoside Rg<sub>1</sub> and Rb<sub>1</sub> in Shenfu Injection by HPLC

CHEN Kai-jie(Chongqing Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and Rb<sub>1</sub> in Shenfu injection. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Inertsil C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 203 nm, and the column temperature was 40 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range were 3.247-16.235 μg for ginsenoside Rg<sub>1</sub> ( $r=0.999\ 9$ ) and 2.536-12.608 μg for ginsenoside Rb<sub>1</sub> ( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were ≤0.57%; the average recoveries were 99.69% (RSD=2.32%,  $n=6$ ) and 99.15% (RSD=2.71%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is accurate, reliable, simple and quick, and can be used for the quality evaluation of different specifications of Shenfu injection.

**KEYWORDS** Ginsenoside Rg<sub>1</sub>; Ginsenoside Rb<sub>1</sub>; Shenfu Injection; HPLC; Determination

参附注射液源自传统中药参附汤,是由现代技术提取红参、黑附子的有效成分组成,含人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>等活性成分,具有回阳、益气、固脱之功效。现代药理研究证明,参附注射液可改善低血容量休克患者血流动力学参数和氧输送情况<sup>[1-2]</sup>;能显著纠正感染性休克时间,增加心脏大鼠血氧输送,改善心功能受损程度<sup>[3]</sup>,改善心肌缺血状况<sup>[4]</sup>,减轻糖尿病大鼠心肌梗死面积,抑制细胞凋亡<sup>[5]</sup>,抗心力衰竭<sup>[6]</sup>,增强机体免疫力<sup>[7-9]</sup>等。近年来学者主要集中于对参附注射液药效学及临床作用等方面的研究,对有效成分的研究较少。因此,在本研究中笔者采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定参附注射液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>的含量,以为更好地控制其产品质量提供科学依据。

## 1 材料

LC-2010A型高效液相色谱仪,包括SPD-10AVP检测器, SIL-10ADvp自动进样器, CLASS-VP工作站(日本岛津公司); KQ-250E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MS303电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>对照品(中国食品药品检定研究院,批号:0703-2011125、0704-201247);参附注射液(某药业有限公司,规格:50 ml,批号:101205、110327、110816、111007、111213、120224);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为二次重蒸水。

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:023-65359442。E-mail: vntlin@yeah.net

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),采用梯度洗脱(0~20 min, 10% A→18% A; 20~27 min, 18% A→10% A);流速:1 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:40 ℃;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>对照品适量,加入流动相溶解并定量稀释,分别制成每1 ml中约含0.5 mg人参皂苷Rg<sub>1</sub>和0.5 mg人参皂苷Rb<sub>1</sub>的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取参附注射液1 ml,置于50 ml量瓶中,加10%甲醇适量,摇匀,定容至刻度,得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 精密吸取阴性对照样品(按参附注射液处方比例制成不含人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>的阴性对照品)1 ml,置于50 ml量瓶中,加10%甲醇适量,摇匀,定容至刻度,得阴性对照品溶液。

### 2.3 系统适用性和专属性试验

精密吸取人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果表明,供试品溶液中的人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>保留时间与对照品溶液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>保留时间一致,且两组分均得到良好分离;同时,在人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>成分的色谱

峰附近,阴性对照品无干扰。

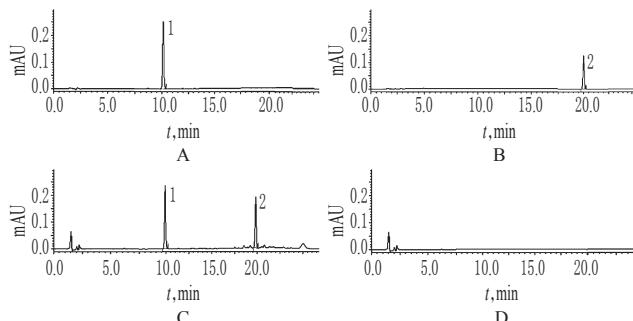


图1 高效液相色谱图

A. 人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>对照品; B. 人参皂苷R<sub>b</sub><sub>1</sub>对照品; C. 供试品; D. 阴性对照; 1. 人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>; 2. 人参皂苷R<sub>b</sub><sub>1</sub>

Fig 1 HPLC chromatograms

A. ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub> control; B. ginsenoside R<sub>b</sub><sub>1</sub> control; C. test sample; D. negative control; 1. ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub>; 2. ginsenoside R<sub>b</sub><sub>1</sub>

## 2.4 线性关系考察

分别精密吸取人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>对照品溶液1、5、10、15、20、25 μl,用10%甲醇稀释定容至50 ml,分别精密吸取5、10、15、20、25 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>的回归方程分别为 $y=375\ 274.75x+36\ 258.70$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=283\ 901.62x+19\ 537.60$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>进样量分别在3.247~16.235、2.536~12.608 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

## 2.5 精密度试验

分别取“2.2.1”项下的人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,测定峰面积。结果,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>峰面积的RSD分别为0.57%、0.54%,表明仪器精密度良好。

## 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:101205)适量,分别于放置0、2、4、8、16、32 h时进样,按“2.1”项下色谱条件测定。结果,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>峰面积的RSD分别为0.39%、0.56%,表明供试品溶液在32 h内质量稳定。

## 2.7 重复性试验

精密称取样品(批号:101205)5份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,测定。结果,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>峰面积的RSD分别为0.42%、0.48%,表明本方法的重复性良好。

## 2.8 加样回收率试验

精密称取参附注射液样品1 ml(批号:101205),置于50 ml量瓶中,分别加入适量人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>对照品溶液,按“2.2.2”项下方法制备6份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积,计算加样回收率,结果见表1。

## 2.9 样品含量测定

取6批参附注射液各3份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以外标法计算含量,结果见表2。

## 3 讨论

### 3.1 色谱条件的选择

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

待测成分	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
人参皂苷R <sub>g</sub> <sub>1</sub>	53.542	8.037	60.898	98.89	99.69	2.32
	53.545	8.037	61.610	100.05		
	53.545	8.037	60.125	97.63		
	53.545	8.037	62.235	101.06		
	53.545	8.037	62.303	101.17		
	53.545	8.037	61.169	99.33		
人参皂苷R <sub>b</sub> <sub>1</sub>	55.613	8.264	62.881	98.44	99.15	2.71
	55.613	8.264	63.673	99.68		
	55.613	8.264	61.699	96.59		
	55.613	8.264	64.534	101.03		
	55.613	8.264	64.637	101.19		
	55.613	8.264	62.568	97.95		

表2 样品含量测定结果(%、 $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of sample(%、 $\bar{x} \pm s, n=3$ )

批号	人参皂苷R <sub>g</sub> <sub>1</sub>	人参皂苷R <sub>b</sub> <sub>1</sub>
101205	3.42 ± 0.65	3.26 ± 0.52
110327	3.21 ± 0.68	3.15 ± 0.61
110816	3.07 ± 0.57	3.11 ± 0.67
111007	3.25 ± 0.72	3.17 ± 0.54
111213	3.16 ± 0.53	3.20 ± 0.49
120224	3.18 ± 0.49	3.09 ± 0.69

本试验曾选用不同厂家或不同型号的色谱柱试验,如岛津Inertsil C<sub>18</sub>色谱柱、Zorbax SBAq色谱柱、Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>色谱柱、Waters symmetryshield TMRP<sub>18</sub>色谱柱等<sup>[10-11]</sup>。结果表明,Inertsil C<sub>18</sub>色谱柱对参附注射液的分离效果最好。同时,本试验考察了流速对峰形和出峰时间的影响。结果发现,当流速为1 ml/min时,各组分的峰形较好且出峰时间较短,因此选择流速为1 ml/min。本试验流动相选用乙腈-水,采用梯度洗脱法,结果表明各组分的分离效果良好,操作较简便。

## 3.2 含量测定结果分析

本次含量测定结果显示,参附注射液中人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>含量最高可达3.42%,人参皂苷R<sub>b</sub><sub>1</sub>含量最高可达3.26%,可见参附注射液中人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、R<sub>b</sub><sub>1</sub>含量差异不大。因此,在检测参附注射液含量时,应将上述两种成分同时进行测定,以确定参附注射液的质量优劣。

综上所述,本方法准确可靠、简单快捷,可用于不同规格参附注射液的质量评价。

## 参考文献

- [1] 陈洁,潘景业,王晓蓉,等.失血性休克大鼠纤溶功能与组织因子变化及参附注射液的干预作用[J].现代实用医学,2010,22(3):253.
- [2] 周小洁,潘景业,陈洁,等.参附注射液对失血性休克大鼠肾脏血栓调节蛋白及内皮细胞蛋白C受体基因表达的影响[J].医学研究杂志,2010,39(1):58.
- [3] 李佳.参附注射液治疗感染性休克的临床研究[D].杭州:浙江大学硕士学位论文,2012.
- [4] 王振富.参附注射液对心肌缺血/再灌注损伤血流动力学和心肌酶的影响[J].中国应用生理学杂志,2011,27(2):155.

# 参芪扶正注射液辅助治疗肺癌的作用机制研究进展

成 婷\*, 苗立云\*(南京大学医学院附属鼓楼医院呼吸科, 南京 210008)

中图分类号 R972 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)40-3829-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.40.28

**摘要** 目的:为促进参芪扶正注射液临床用于辅助治疗肺癌提供参考。方法:查阅近年来国内外关于参芪扶正注射液辅助治疗肺癌的作用机制的研究文献,并进行整理和综述。结果:参芪扶正注射液除了可抑制肿瘤转移、调节免疫功能、改善肿瘤恶病质状态之外,与化疗药物合用时还可起到拮抗其毒性的作用。结论:随着对其药理作用的深入研究,参芪扶正注射液作为化疗辅助用药,将会更加广泛地在临床用于肺癌的辅助治疗。

**关键词** 参芪扶正注射液;肺癌;辅助治疗;机制

原发性支气管肺癌简称肺癌(Lung cancer),是严重危害人类健康和生命的恶性肿瘤之一,半个世纪以来肺癌的发病率和致死率都呈明显增高趋势。化疗药物和新型靶向疗法虽然有一定的疗效,但不良反应明显,易出现获得性耐药现象。

中医学认为,肿瘤主要是由于正气虚损,脏腑功能失调,留滞客邪,致使气滞血瘀、痰凝毒聚,相互胶结、蕴郁而成。肿瘤的生长会进一步耗损正气,正不遏邪则又助长了肿瘤的发展。由此可见,正虚是肿瘤发生、发展的基础。参芪扶正注射液是采用我国传统的扶正补气药党参和黄芪为主要原料,以现代高科技手段提取分离有效成分精制而成的中药注射液<sup>[1-2]</sup>。传统医学认为,党参有益气、养津、补血作用;黄芪有补中升阳、益卫固表作用。相关研究表明,参芪扶正注射液在联合化疗中可以减轻化疗药物对肝、肾功能的损伤;保护造血功能,降低化疗药物对骨髓的抑制作用;减轻化疗药物所致的胃肠道反应,增强食欲,改善机体的免疫功能,提高患者对化疗的承受能力,从而提高患者生存质量,延长生存期<sup>[3]</sup>。因此,参芪扶正注射液是较好的化疗辅助用药,本文拟就其辅助治疗肺癌的作用机制及相关研究进展作一综述。

## 1 抑制肿瘤转移作用

肺癌的发生、发展、浸润及转移不仅依靠肿瘤细胞自身的生物学增殖特性,更依赖于从宿主环境中汲取营养,当肿瘤细胞达1~2 mm后,其依靠新生血管为其提供营养物质和代谢

废物排出<sup>[4]</sup>。因此,新生血管是肿瘤生长的必要条件,同时也为肿瘤浸润提供途径。血管内皮生长因子(VEGF)是目前已知的作用最强的促血管内皮生长刺激因子,具有增加血管通透性,促进肿瘤血管形成等生物学功能,对肿瘤血管内皮细胞的增殖和迁移等发挥着重要作用,同时与肺癌的分期、转移和预后及治疗密切相关,因而近年来以VEGF为靶点的抗血管治疗已成为研究的热点。

柏长青等<sup>[5]</sup>借助免疫组化和图像分析技术,观察了不同浓度的黄芪、党参提取物对人小细胞肺癌细胞(NCI-H446)VEGF蛋白表达的影响。采用Matrigel侵袭实验共培养法,观察黄芪、党参提取物对NCI-H446细胞诱导人血管内皮细胞(ECV-304)迁移的抑制作用,发现当黄芪、党参提取物浓度达到40%(V/V)时能够抑制NCI-H446细胞诱导的ECV-304细胞迁移,并且具有显著的剂量-效应关系;浓度达到50%(V/V)时可以明显抑制NCI-H446细胞VEGF表达。结果表明,高浓度的黄芪、党参提取物能够抑制肺癌细胞诱导的血管内皮细胞迁移,这种抑制作用可能与其抑制肺癌细胞VEGF表达有关。

## 2 改善肿瘤微环境作用

### 2.1 调节免疫功能

从现代免疫学观点看,人体本身就具有消灭肿瘤的能力,机体抗肿瘤的免疫细胞包括T细胞、K细胞、NK细胞、巨噬细胞等,其连同某些体液免疫因素足以消灭106个肿瘤细胞<sup>[6]</sup>。

[5] Wu Y, Xia ZY, Meng QT, et al. Shen- Fu injection preconditioning inhibits myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats: activation of eNOS via the PDK/ Akt pathway[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 29(11):384.

[6] 吴红金,张颖莉.参附注射液对试验性心力衰竭大鼠血浆凋亡相关因子的影响[J].*中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(8):926.

[7] 姜孝新,伍小平,蒋艳,等.参附注射液对中晚期非小细胞肺癌患者化疗后免疫功能的影响[J].*苏州大学学报医学*

版, 2011, 5(3):133.

[8] 田香, 陶大明, 蔡回钧, 等.参附注射液对体外循环术中患者红细胞免疫功能的影响[J].*中国中西医结合杂志*, 2011, 31(11):1471.

[9] 谢健苏.参附注射液对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障通透性及神经功能的影响[J].*重庆医科大学学报*, 2009, 34(11):1506.

[10] Snyder R, Kirkland JJ.实用高效液相色谱法的建立[M].2版.北京:华文出版社, 2001:112.

[11] 柯金虎, 孙玉琴, 马妮, 等.HPLC法测定三七保肝胶囊中皂苷的含量[J].*中国科技杂志*, 2004(3):40.

\* 硕士研究生。研究方向:肺癌患者药学监护。E-mail: cPuchengting@163.com  
# 通信作者:副主任医师,博士。研究方向:肺癌。E-mail: liyunmiao462@163.com

(收稿日期:2014-03-31 修回日期:2014-09-16)