

UPLC-ELSD 法快速测定生脉注射液中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量

姚令文¹, 刘瑞², 聂黎行^{1*}, 王钢力¹, 戴忠¹, 马双成^{1*} (1. 中国食品药品检定研究院, 北京100050; 2. 山西中医学院, 晋中 030619)

摘要 目的: 建立生脉注射液中主要单糖和双糖含量的快速测定方法。方法: 采用超高效液相色谱结合蒸发光散射检测器 (UPLC-ELSD) 同时测定果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量。样品经ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 柱温35℃。流动相为乙腈 (含0.2%三乙胺)-水 (75:25), 流速0.2 mL·min⁻¹。ELSD检测器漂移管温度55℃, 氮气压力40.0 psi。结果: 4个成分在各自范围内线性关系良好。果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖的平均回收率分别为101.6%、99.1%、99.6%、97.9%。生脉注射液中果糖含量最高, 3个生产企业的7批样品糖类成分含量差异较大。结论: 该方法简便、快速、灵敏、准确, 可为中药注射剂的质量控制和物质基础研究提供参考。

关键词: 生脉注射液; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖; 麦芽糖; 超高效液相色谱; 蒸发光散射检测器

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)01-0067-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.01.012

Rapid Determination of Fructose, Glucose, Sucrose and Maltose in Shengmai Injection by UPLC-ELSD Method

Yao Lingwen¹, Liu Rui², Nie Lixing^{1*}, Wang Gangli¹, Dai Zhong¹, Ma Shuangcheng^{1*} (1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

Abstract Objective: To establish a rapid determination method of the main monosaccharides and disaccharides in Shengmai Injection. **Methods:** Fructose, glucose, sucrose and maltose were determined simultaneously by ultra performance liquid chromatography (UPLC) method combined with evaporative light scattering detector (ELSD). Separation was performed on an ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm) column and the column temperature was 35℃. The mobile phase consisted of acetonitrile (containing 0.2% triethylamine)-water (75:25) at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹. The temperature for the evaporator tube of ELSD was maintained at 55℃ and the gas pressure for nitrogen was 40.0 psi. **Results:** The calibration curves of the 4 components showed good linearity within their test ranges. The average recoveries for fructose, glucose, sucrose and maltose were 101.6%, 99.1%, 99.6% and 97.9%, respectively. The highest content of sugar in Shengmai Injection was

基金项目: 国家自然科学基金 (编号 81303194); 国家中医药管理局中药标准化建设项目 (编号 ZYBZH-C-JS-32); 中国食品药品检定研究院学科带头人培养基金 (编号 2017X1)

作者简介: 姚令文, 主管药师, 主要从事中药质量控制方法的研究; Tel: (010) 67095387; E-mail: haode0864@sina.com

通信作者: 聂黎行; Tel: (010) 67095313; E-mail: nielixing@163.com

马双成; Tel: (010) 67095272/6095887; E-mail: masc@nifdc.org.cn

fructose and there was a great variation among contents of sugars in 7 batches of samples from 3 manufactures.

Conclusion: The established method was simple, rapid, sensitive and accurate, and could provide references for quality control and substance basis investigation of Traditional Chinese Medicine (TCM) injections.

Keywords: Shengmai Injection; fructose; glucose; sucrose; maltose; ultra performance liquid chromatography; evaporative light scattering detector

生脉注射液的处方源自古方“生脉散”，由红参、麦冬、五味子三味中药提取精制而成，具有益气养阴、复脉固脱的功效^[1]。方中红参和麦冬均含有大量的糖类成分^[2-6]，原国家食品药品监督管理局《关于开展中药注射剂安全性再评价工作的通知》中，要求“注射剂中所含成分应基本清楚，应对注射剂总固体中所含成分进行系统的化学研究”^[7]；因此，有必要对本品中糖类成分含量加以测定。目前，单个糖类成分的含量测定主要采用高效液相色谱-蒸发光散射法^[8-10]和高效液相色谱-示差折光（HPLC-RID）法^[11-13]。中药注射剂成分复杂，不同种类的糖保留时间接近，难以有效分离，其他高极性成分也可能会干扰测定。超高效液相色谱（UPLC）技术具有分析时间短、分离度好、灵敏度高、溶剂消耗少等优点，尤其适用于中药的检测和分析^[14-16]。本文以生脉注射液为例，首次采用UPLC-ELSD技术建立了中药注射剂中糖类成分的快速测定方法，为该品种的质量控制和化学物质基础研究提供了实验基础，也为中药注射剂的再评价工作提出了参考和示范。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC液相色谱系统，配有ACQUITY ELSD蒸发光散射检测器；METTLER AE240百万分之一电子天平。

1.2 试剂

7批生脉注射液由3个生产企业提供。D-果糖（批号111504-200001）、D-葡萄糖（批号110833-200503）、蔗糖（批号111507-200001）、麦芽糖（批号100287-200701）对照品均来自中国食品药品检定研究院。色谱纯乙腈购于Merck公司；分析纯三乙胺购于北京化学试剂公司；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：ACQUITY UPLC BEH Amide（2.1 mm × 150 mm，1.7 μm），柱温：35℃。流动相：乙腈（含0.2%三乙胺）-水（75：25），流速0.2 mL·min⁻¹。漂移管温度55℃，氮气压力40.0 psi，增益100，数据率2 pps，冷却模式。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取D-果糖、D-葡萄糖、蔗糖和麦芽糖对照品适量，加50%乙腈制成每1 mL分别含5、0.7、1、0.7 mg的溶液，作为混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密量取本品1 mL，置25 mL量瓶中，加50%乙腈稀释至刻度，摇匀，即得。

2.4 测定法

精密吸取对照品溶液2 μL、5 μL和供试品溶液2 μL，注入液相色谱仪，按“2.1”节下条件测定，以进样量对数值为横坐标，峰面积对数值为纵坐标，绘制线性方程，用于含量测定。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系试验

取混合对照品溶液，加50%乙腈逐级稀释得系列对照品溶液，以进样量的对数值为横坐标，峰面积的对数值为纵坐标绘制标准曲线，结果显示各糖线性关系良好，回归方程、线性范围和相关系数见表1。

2.5.2 精密度试验

取同一供试品溶液，连续测定6次，各糖峰面积RSD均小于3.0%，结果见表2。

2.5.3 稳定性试验

取同一供试品溶液，分别于0、2、4、8、12、16 h进样测定，各糖峰面积RSD均小于3.0%，见表3。

表1 线性关系

成分	回归方程	线性范围 /mg	相关系数
果糖	$y = 1.4861x + 5.9279$	0.4647~6.5055	0.9995
葡萄糖	$y = 1.3875x + 5.7389$	0.06792~0.9509	0.9994
蔗糖	$y = 1.4150x + 5.8260$	0.1094~1.5310	0.9992
麦芽糖	$y = 1.1386x + 5.4051$	0.06676~0.9346	0.9990

表2 精密度试验

成分	试验编号						平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
果糖	3005075	3032041	2990688	2953333	2973206	3049591	3000656	1.3
葡萄糖	156035	156479	152482	149638	150368	155281	153381	2.0
蔗糖	350716	349020	351494	346436	351903	353115	350447	0.7
麦芽糖	105763	108392	108027	105877	105439	106861	106727	1.2

表3 稳定性试验

成分	时间						平均值	RSD/%
	0 h	2 h	4 h	8 h	12 h	16 h		
果糖	2822347	2787409	2756475	2752227	2690907	2801888	2768542	1.7
葡萄糖	148507	148183	150870	153738	149318	148999	149936	1.4
蔗糖	333677	332242	332991	332960	321081	332447	330900	1.5
麦芽糖	102809	103811	102329	107329	103593	102683	103759	1.8

2.5.4 重复性试验

样测定, 计算各糖含量, RSD均小于3.0%, 见表4。

表4 重复性试验

成分	试验编号						平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
果糖	26.71	26.03	25.78	25.89	26.07	26.80	26.21	1.7
葡萄糖	4.65	4.40	4.48	4.49	4.54	4.72	4.55	2.6
蔗糖	7.04	6.90	7.01	7.27	6.93	7.40	7.07	2.8
麦芽糖	4.27	4.28	4.21	4.31	4.26	4.48	4.30	2.2

2.5.5 回收率试验

精密量取已知含量的本品0.2 mL于10 mL量瓶中，精密加入混合对照品溶液1.3 mL，加50%乙醇

稀释至刻度，摇匀，即得加样回收溶液，平行制备6份，进样测定，计算回收率，各糖回收率均在95.0%~105.0%，RSD均小于3.0%，见表5。

表5 回收率试验

成分	含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
果糖	5.3379	6.0408	6.1472	101.76	101.6	2.0
			6.3530	105.17		
			6.1501	101.81		
			6.1381	101.61		
			6.0481	100.12		
			5.9938	99.22		
葡萄糖	0.9096	0.8830	0.8841	100.13	99.1	1.5
			0.8900	100.79		
			0.8863	100.38		
			0.8586	97.25		
			0.8647	97.93		
			0.8680	98.31		
蔗糖	1.4540	1.4217	1.4394	101.24	99.6	2.1
			1.4759	103.81		
			1.4445	101.60		
			1.4352	100.95		
			1.3843	97.37		
			1.4363	101.03		
麦芽糖	0.8612	0.8679	0.8421	97.03	97.9	1.5
			0.8561	98.65		
			0.8706	100.31		
			0.8520	98.17		
			0.8370	96.45		
			0.8410	96.91		

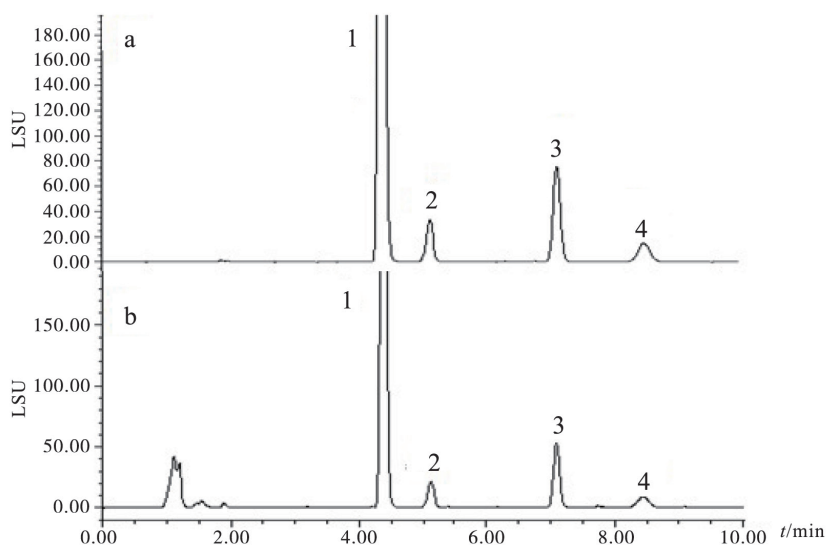
2.6 样品测定

取生脉注射液，依法测定，结果见表6。对照

品和供试品溶液色谱图见图1。

表6 样品测定结果

生产厂家	批号	果糖	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	总和
A	09122603	26.69	4.55	7.27	4.31	42.82
B	10092224	13.13	3.56	4.61	3.33	24.63
B	10092344	14.42	3.99	4.64	3.98	27.03
B	10092462	18.82	4.04	4.96	4.06	31.88
B	10092222	12.92	3.22	4.41	3.59	24.14
C	K-101103-1	23.72	3.83	6.91	4.41	38.87
C	K-110102-1	38.04	3.62	5.13	5.98	52.77



1. 果糖; 2. 葡萄糖; 3. 蔗糖; 4. 麦芽糖。

图1 混合对照品 (a) 和生脉注射液 (b) 色谱图

3 讨论

生脉注射液中糖类成分为单糖和双糖，以果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖为主，其中果糖含量最高，占4种糖总和的60%左右。笔者还对上述糖类成分的来源进行了研究，结果显示果糖和葡萄糖主要来自麦冬水煎煮液，蔗糖和麦芽糖主要来自红参醇提液，五味子水煎煮液中也含有少量果糖。7批样品总糖含量在24.14~52.77 mg·mL⁻¹，差异显

著，建议加强麦冬和红参原料的质量控制，规范和固化产地、采收时间、加工工艺等因素，提高成品的均一性。

参考文献：

- [1] 国家食品药品监督管理局. WS3-B-2865-98-2011 生脉注射液标准[S]. 2011.
- [2] 旷湘楠, 朱娜, 刘时乔. 麦冬化学成分研究[J]. 中国药

- 业, 2018, 27 (2): 19-22.
- [3] 张璐欣, 周学谦, 李德坤, 等. 麦冬提取工艺多糖变化规律研究[J]. 中国现代中药, 2017, 19 (7): 1007-1011.
- [4] 王敏, 刘永利, 段吉平, 等. 红参药材与饮片质量评价研究[J]. 中国药事, 2017, 31 (6): 647-652.
- [5] 陈佳, 刘永利, 崔志海, 等. 红参中总还原糖含量测定及限度值拟定[J]. 中药材, 2016, 39 (10): 2426-2429.
- [6] 凌益平, 徐兵勇, 刘武, 等. HPLC-ELSD测定红参、麦冬及其制剂中糖的含量[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31 (11): 1395-1399.
- [7] 董晓旭, 付京, 倪健. 中药注射剂安全性再评价研究概述[J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38 (4): 406-408.
- [8] 曹树萍, 聂黎行, 刘丽娜, 等. HPLC-ELSD及GC-MS法分析参麦注射液及中间体糖类成分[J]. 药物分析杂志, 2014, 34 (10): 1741-1745.
- [9] 巴晓雨, 郝福, 张纲, 等. HPLC-ELSD法同时测定黄芪注射液中单糖和蔗糖含量[J]. 亚太传统医药, 2017, 13 (10): 25-27.
- [10] 张利沙, 孙玮玮, 徐自慧. 复方南板蓝根颗粒中多糖的含量测定及单糖组成分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37 (10): 1845-1850.
- [11] 于雷, 李晓坤, 张华锋, 等. RP-HPLC-RID法同时测定怀地黄中单糖、低聚糖的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (6): 977-982.
- [12] 张璐, 张永丽, 姜伟. HPLC-RID法测定天麻蜜环菌片中的D-无水葡萄糖含量[J]. 江西中医药大学学报, 2016, 28 (6): 62-63.
- [13] 杨成聪, 凌霞, 胡伟伟, 等. 高效液相-示差折光法测定米酒中3种糖的含量[J]. 食品研究与开发, 2017, 38 (21): 135-141.
- [14] 聂黎行, 戴忠, 林瑞超, 等. UPLC法测定愈风宁心滴丸中葛根素的含量[J]. 中国药事, 2013, 27 (10): 1075-1076.
- [15] 聂黎行, 何雨晴, 戴忠, 等. 藿香正气水快速质量评价 (I) -化学计量学辅助的UPLC指纹图谱研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52 (20): 1862-1866.
- [16] 聂黎行, 何雨晴, 于建东, 等. 藿香正气水快速质量评价 (II) -超高效液相色谱波长切换法同时测定7个成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2017, 52 (24): 2192-2195.

(收稿日期 2018年1月28日 编辑 范玉明)