

HPLC法同时测定三七伤药胶囊中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的含量

黄玉英*(广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1706-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.43

摘要 目的:建立同时测定三七伤药胶囊中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为CAPCELLPAK C₁₈,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),检测波长为203 nm,柱温为35 ℃,流速为1.0 ml/min,进样量为10 μl。结果:三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的进样量分别在0.207~4.146、0.515~10.293、0.505~10.093 μg范围内与各自峰面积呈良好线性关系(*r*均为0.999 9);精密度试验的RSD<1.0%,稳定性、重复性试验的RSD<3%;加样回收率分别为99.40%、101.64%、101.36%,RSD分别为2.89%、2.45%、2.52%(*n*=6)。结论:该方法操作简便、准确性高、重复性好,可用于三七伤药胶囊中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;三七伤药胶囊;三七皂苷R₁;人参皂苷Rg₁;人参皂苷Rb₁

Determination of Contents of Notoginsenoside R₁, Ginsenoside Rg₁ and Ginsenoside Rb₁ in Sanqi Shangyao Capsules by HPLC

HUANG Yu-ying(Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method of content determination of ginsenoside Rg₁, Rb₁ and notoginsenoside R₁ in Sanqi shangyao capsules. METHODS: HPLC was conducted. The CAPCELLPAK C₁₈ column was used at 35 ℃ with acetonitrile-water (gradient elution) as the mobile phase, 1.0 ml/min as the flow rate, 203 nm as the detective wave length, 10 μl as volume. RESULTS: There was a good linear relationship between the volume of ginsenoside Rg₁, Rb₁ and notoginsenoside R₁ and their own peak area in the range of 0.515-10.293 μg(*r*=0.999 9), 0.505-10.093 μg(*r*=0.999 9) and 0.207-4.146 μg(*r*=0.999 9). The RSD of precision test was less than 1.0%, RSDs of stability test and repeatability test was less than 3%; the average recovery was 101.64% (RSD=2.45%), 101.36% (RSD=2.52%) and 99.40% (RSD=2.89%), respectively(*n*=6). CONCLUSIONS: This method is simple with good accurate and repeatability. It can be used to control the quality of ginsenoside Rg₁, Rb₁ and notoginsenoside R₁ of content in Sanqi shangyao capsules.

KEYWORDS HPLC; Sanqi shangyao capsules; Notoginsenoside R₁; Ginsenoside Rg₁; Ginsenoside Rb₁

三七伤药胶囊是由三七、制草乌、雪上一枝蒿、冰片、骨碎补、红花、接骨木、赤芍等8味药材组成的复方制剂。原标准采用高效液相色谱(HPLC)法测定了三七中三七皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁的含量,但尚不能完全反映三七的质量。按国家中药品种保护审评委员会补充通知的要求,现有标准增加了对三七皂苷R₁的含量测定。由于三七伤药胶囊提取后杂质较多,可导致三七皂苷R₁与其他干扰成分无法达到基线分离。为此,笔者参考相关文献^[1-3],对提取方法进行了优化,建立了采用HPLC法同时测定三七伤药胶囊中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪(美国安捷伦公司);Milli-Q Advantage A10超纯水系统(美国默克密理博公司);KQ-800DB数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);XS205十万分之一精密天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司)。

1.2 药品与试剂

三七伤药胶囊(广西玉林制药有限公司,批号:

*主管药师。研究方向:中药、民族药质量标准研究。电话:0771-5827058。E-mail:13878879794@163.com

310161、310182、310193、310236、310243、310251、310266、310267、310276、310282);三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110745-200617、110703-201027、110704-201122);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:CAPCELLPAK C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相^[1-3]:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(程序见表1);流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间,min	流动相A,%	流动相B,%
0~10	20	80
10.01~26	20~22	80~78
26.01~30	22~23	78~77
30.01~35	23~28	77~72
35.01~68	28~35	72~65
68.01~75	35~90	65~10
75.01~85	90	10
85.01~96	20	80

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密量取三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁对照品适量,加甲醇制成每1 ml含三七皂苷R₁ 0.08 mg、人参皂苷Rg₁ 0.2 mg、人参皂苷Rb₁ 0.2 mg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品20粒的内容物,混匀,取约1 g,精密称定,加入70%乙醇50 ml,称定质量,放置过夜,超声(功率:480 W,频率:40 kHz)处理40 min,放冷,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25 ml,水浴蒸去乙醇,水浴转移至分液漏斗中,加15 ml水分次洗涤,并将洗涤液转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇振摇提取5次,每次20 ml,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的氨试液洗涤3次,每次50 ml。取正丁醇液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,并转移至5 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液制备 按三七伤药胶囊制备工艺的方法制备不含三七的阴性对照样品,并按“2.2.2”项下的方法制备,即得。

2.3 干扰试验

取“2.2”项下混合对照品、供试品及阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁与邻近峰均达到基线分离,分离度>1.5,理论板数按人参皂苷Rg₁峰计不低于3 000;阴性无干扰。色谱见图1。

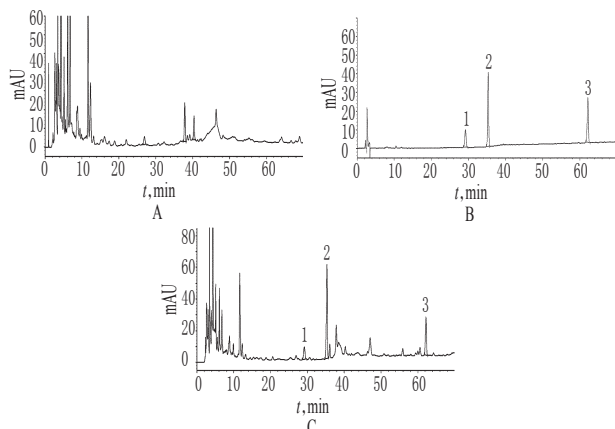


图1 高效液相色谱图

A. 阴性对照; B. 混合对照品; C. 供试品; 1. 三七皂苷R₁; 2. 人参皂苷Rg₁; 3. 人参皂苷Rb₁

Fig 1 HPLC chromatograms

A. negative control; B. mixed control; C. test sample; 1. notoginsenoside R₁; 2. ginsenoside Rg₁; 3. ginsenoside Rb₁

2.4 线性关系考察

精密称取三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁对照品各适量,加甲醇制成每1 ml含三七皂苷R₁ 0.40 mg、人参皂苷Rg₁ 1.00 mg、人参皂苷Rb₁ 1.00 mg的混合溶液,作为混合对照品贮备液。分别精密吸取对照品贮备液1.0、2.0、1.0、1.0、1.0 ml,分别置于20、10、5、5、2 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。按“2.1”项下色谱条件分别进样10 μl,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,得三七皂苷R₁的回归方程为 $y=292.31x-3.2229$ ($r=0.9999$)、人参皂苷Rg₁的回归方程为 $y=346.25x+12.709$ ($r=0.9999$)、人参皂苷Rb₁的回归方程为 $y=266.33x+2.6379$ ($r=0.9999$)。结

果表明,三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的进样量分别在0.207~4.146、0.515~10.293、0.505~10.093 μg范围内与各自峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

取同一供试品溶液(批号:310267)适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样5次,记录峰面积。结果,三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Rb₁的RSD分别为0.96%、0.84%、0.49%($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取样品(批号:310267)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于放置0、5、18、24、30、36、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定记录峰面积。结果,三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Rb₁的RSD分别为2.20%、1.46%、1.27%($n=7$),表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:310267)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果,三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的含量分别为0.175 7、0.773 4、0.470 1 mg/粒,RSD分别为2.31%、1.27%、2.53%($n=6$),表明本方法重复性较好。

2.8 加样回收率试验

精密量取三七皂苷R₁对照品11.21 mg,置于25 ml量瓶中,加70%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得三七皂苷R₁对照品溶液;精密量取人参皂苷Rg₁对照品15.11 mg、人参皂苷Rb₁对照品11.71 mg,置于同一500 ml量瓶中,加入适量70%乙醇溶解后,加入三七皂苷R₁对照品溶液10 ml,再加70%乙醇稀释并定容,摇匀,即得对照品贮备液。精密称取已知含量的样品(批号:310267)6份,每份约0.5 g,精密称定,分别精密加入上述对照品贮备液50 ml,按“2.2.2”项下方法称定质量,放置过夜操作开始制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery test($n=6$)

待测成分	称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
三七皂苷R ₁	0.522 9	0.360 7	0.448 4	0.800 5	98.09	99.40	2.89
	0.511 6	0.352 9	0.448 4	0.789 4	97.35		
	0.535 4	0.369 3	0.448 4	0.823 3	101.24		
	0.504 0	0.347 7	0.448 4	0.803 8	101.72		
	0.543 9	0.375 2	0.448 4	0.829 7	101.36		
	0.525 4	0.362 4	0.448 4	0.795 6	96.62		
人参皂苷Rg ₁	0.522 9	1.600 3	1.455 1	3.070 3	101.02	101.64	2.45
	0.511 6	1.565 8	1.455 1	3.008 5	99.15		
	0.535 4	1.638 6	1.455 1	3.088 5	99.64		
	0.504 0	1.542 5	1.455 1	3.055 6	103.99		
	0.543 9	1.664 6	1.455 1	3.175 0	103.80		
	0.525 4	1.608 0	1.455 1	3.096 0	102.26		
人参皂苷Rb ₁	0.522 9	1.047 1	1.087 9	2.058 9	99.86	101.36	2.52
	0.511 6	1.024 4	1.087 9	2.067 1	102.55		
	0.535 4	1.072 1	1.087 9	2.108 8	102.31		
	0.504 0	1.009 2	1.087 9	2.007 4	98.36		
	0.543 9	1.089 1	1.087 9	2.131 4	102.93		
	0.525 4	1.052 1	1.087 9	2.088 8	102.18		

2.9 样品含量测定

取不同批号的样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试

UPLC法同时测定甘肃产蒙古黄芪皂苷类成分的含量

高攀峰*, 胡明勋, 曹爱华(平顶山市平煤神马医疗集团总医院, 河南 平顶山 467000)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1708-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.44

摘要 目的:建立同时测定甘肃产蒙古黄芪药材中黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Acquity, 流动相为乙腈-0.3% 甲酸溶液(梯度洗脱);蒸发光散射检测器(ELSD)参数为漂移管温度 70 °C, 喷雾器温度 42 °C, 氮气体积流量 2.07 L/min。结果:精密度、稳定性、重复性试验的 RSD ≤ 1.22%; 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪甲苷的加样回收率分别为 100.32%、99.51%、100.57%、100.21%, RSD 分别为 0.44%、0.39%、1.19%、0.65%。结论:该方法简便、快速,结果准确、可靠,重复性良好,可为甘肃黄芪的质量控制提供依据。

关键词 蒸发光散射检测器;黄芪;黄芪皂苷 I;黄芪皂苷 II;黄芪皂苷 III;黄芪甲苷

Quality Analysis of Saponins of *Astragalus mongolicus* in Gansu

GAO Pan-feng, HU Ming-xun, CAO Ai-hua (General Hospital of Pingmei Shenma Medical Group in Pingdingshan City, Henan Pingdingshan 467000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of astragaloside I, astragaloside II, astragaloside III and astragaloside A from in the medicinal materials of *Astragalus mongolicus* in Gansu. METHODS: UPLC method was adopted. The column was Waters Acquity with the mobile phase of acetonitrile-0.3% formic acid solution (gradient elution). The evaporative light scattering detector (ELSD) parameters were as follows as drift tube temperature of 70 °C, sprayer temperature of 42 °C and nitrogen volume flow of 2.07 L/min. RESULTS: RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all ≤ 1.22%. The average recoveries of astragaloside I, astragaloside II, astragaloside III and astragaloside A were 100.32%, 99.51%, 100.57% and 100.21% with the RSD of 0.44%, 0.39%, 1.19% and 0.65%, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate, reliable and reproducible, and it can provide reference for the quality control of *Leguminosae* in Gansu.

KEYWORDS Evaporative light scattering detector; *Leguminosae*; Astragaloside I; Astragaloside II; Astragaloside III; Astragaloside A

品溶液,再按“2.1”项下色谱进样测定,记录峰面积,并计算样品含量,结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果(n=2)

批号	平均含量,mg/粒	平均相对偏差,%
310161	2.05	2.44
310182	2.87	1.39
310193	2.43	0.41
310236	1.44	0.69
310243	1.01	1.98
310251	0.96	0.00
310266	1.26	0.79
310267	0.97	1.03
310276	2.12	1.89
310282	1.58	1.90

3 讨论

3.1 提取条件的考察

笔者参考有关文献^[1-4],考虑三七以粉末入药,加溶剂后浸泡过夜再提取更加合理,故在提取供试品溶液时,对样品进行了浸泡过夜处理。笔者又分别考察了水饱和正丁醇、甲醇、70%乙醇 3 种提取溶剂,结果发现以 70%乙醇提取时含量较

高;尤以 70%乙醇提取后,蒸去水液中的乙醇后,再用水饱和正丁醇提取效果更好,故采用 70%乙醇作为提取溶剂。

3.2 色谱柱的选择

笔者参考相关文献^[1-4],分别考察了 CAPCELLPAK C₁₈、Sunfire C₁₈、AlltimaTM C₁₈ 3 个不同品牌的色谱柱,并考察了仪器的稳定性,结果发现 CAPCELLPAK C₁₈ 所测成分峰形良好,且与其他成分峰可达到较好的基线分离。

综上所述,本方法操作简便、准确性高、重复性好,可用于三七伤药胶囊中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_g₁、人参皂苷 R_b₁ 的含量测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010 版. 北京:中国医药科技出版社,2010:451-452.
- [2] 张永,俞发. HPLC法测定活血止痛片中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_g₁、Re、R_b₁ 含量[J]. 中药材,2008,31(5):771.
- [3] 黎耀东,卢军. HPLC法测定千斤肾安宁片中的人参皂苷 R_g₁、R_b₁ 及三七皂苷 R₁ 含量[J]. 中成药,2008,30(11):1631.
- [4] 李兵,张文成,任少伟,等. HPLC法同步测定三七粉中人参皂苷 R_g₁、R_b₁ 及三七皂苷 R₁ 的含量[J]. 安徽化工,2014,40(3):83.

(收稿日期:2014-09-15 修回日期:2015-01-27)

(编辑:陈宏)

* 主管中药师。研究方向:中药质量控制和临床应用。电话:0375-2799289。E-mail:1357204495@qq.com