

心灵丸中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的含量测定

林晓辉¹, 张雪原¹, 林史珍², 朱吉士¹

(1. 广东省潮州市药品检验所, 广东 潮州 521000; 2. 华南农业大学, 广东 广州 510642)

摘要: 目的 建立同时测定心灵丸中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Agilent Hypersil ODS 柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μ m), 流动相 A 为乙腈, B 为水, 梯度洗脱(0 min 19% A → 12 min 19% A → 60 min 36% A), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 203 nm。结果 三七皂苷 R_1 进样量在 0.137 8 ~ 2.756 0 μ g 范围内与峰面积线性关系良好, $r = 0.999 7$, 平均回收率为 98.95%, RSD 为 0.67%; 人参皂苷 R_{g1} 进样量在 0.567 2 ~ 11.344 0 μ g 范围内与峰面积线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率为 99.10%, RSD 为 0.29%; 人参皂苷 R_{b1} 进样量在 0.418 6 ~ 8.372 0 μ g 范围内与峰面积线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率为 99.02%, RSD 为 0.42%。结论 HPLC 法简便准确、专属性强, 可用于心灵丸的质量控制。

关键词: 心灵丸; 三七皂苷 R_1 ; 人参皂苷 R_{g1} ; 人参皂苷 R_{b1} ; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2009)16-0027-02

Determination of Notoginsenoside R_1 and Ginsenoside R_{g1} , R_{b1} in Xinling Pills by HPLC

Lin Xiaohui¹, Zhang Xueyuan¹, Lin Shizhen², Zhu Jishi¹

(1. Chaozhou Institute for Drug Control, Chaozhou, Guangdong, China 521000; 2. South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong, China 510642)

Abstract: **Objective** To establish a HPLC method for the content determination of notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g1} , R_{b1} in Xinling Pills. **Methods** The analysis was performed on the Agilent Hypersil ODS column(250 mm × 4.0 mm, 5 μ m), using the mixture of acetonitrile (A) and water(B) as the mobile phase. Elution was performed using the gradient mode(0 min 19% A → 12 min 19% A → 60 min 36% A), and the flow rate was 1.0 mL/min. The detection wavelength was 203 nm. **Results** There was good linearity in the range of 0.137 8 ~ 2.756 0 μ g for notoginsenoside R_1 ($r = 0.999 7$), 0.567 2 ~ 11.344 0 μ g for ginsenoside R_{g1} ($r = 0.999 9$) and 0.418 6 ~ 8.372 0 μ g for ginsenoside R_{b1} ($r = 0.999 9$). The average recovery rates and RSD were 98.95% and 0.67% for notoginsenoside R_1 , 99.10% and 0.29% for ginsenoside R_{g1} and 99.02% and 0.42% for ginsenoside R_{b1} . **Conclusion** This method is simple and reliable for the quality control of Xinling Pills.

Key words: Xinling Pills; notoginsenoside R_1 ; ginsenoside R_{g1} ; ginsenoside R_{b1} ; HPLC

心灵丸由人工麝香、人工牛黄、蟾酥、珍珠、冰片、三七、人参、熊胆、水牛角等组成, 具有活血化瘀、益气强心、通窍止痛的功效, 原标准收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第二十册)》, 无含量测定项。笔者采用高效液相色谱(HPLC)法测定心灵丸中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的含量, 报道如下。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪; Shimadzu UV-2201 型紫外分光光度计; Mettler Toledo AL204 型电子分析天平(万分之一); Mettler Toledo XS205 型电子分析天平(十万分之一); UP250H 超声波清洗器(南京熊猫技术装备有限公司); 心灵丸(每 10 丸重 200 mg)

心灵丸缺三七人参阴性制剂均由广东宏兴集团股份有限公司宏兴制药厂提供; 三七皂苷 R_1 对照品(批号 745-200208)、人参皂苷 R_{g1} 对照品(批号 703-200221)、人参皂苷 R_{b1} 对照品(批号 704-200215)均由中国药品生物制品检定所提供; 乙腈(色谱纯), 甲醇(分析纯, 广州化学试剂厂); 水(重蒸水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Hypersil ODS 柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μ m); 流动相 A 为乙腈, B 为水, 梯度洗脱(0 min 19% A → 12 min 19% A → 60 min 36% A); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 203 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C;

表 1 呋喃唑酮加样回收试验结果($n = 6$)

样品含量(μ g)	加入量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.145	0.103	0.248	100.00	99.38	0.37
0.145	0.103	0.247	99.03		
0.145	0.154	0.298	99.35		
0.145	0.154	0.298	99.35		
0.145	0.206	0.350	99.51		
0.145	0.206	0.349	99.03		

2.4 样品含量测定

取 3 批样品, 依法制备供试品溶液并测定, 按外标法计算含量。结果见表 2。

3 讨论

取对照品溶液, 用二极管检测器在 200 ~ 400 nm 波长范围内扫描。结果 366 nm 波长处呋喃唑酮的吸光强度最大, 故选用 366 nm

作为检测波长。用不同比例的甲醇-磷酸盐缓冲液(pH = 6.8)-水和不同比例的 0.03 mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈为流动相进行试验, 结果以 0.03 mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈(57:43)为流

动相时, 理论塔板数高, 拖尾因子小, 故以此为流动相。呋喃唑酮对光比较敏感, 试验时均应避光操作。采用 HPLC 法测定呋喃唑酮片的含量, 干扰较少, 且结果准确, 方法简便、重复性好, 可作为呋喃唑酮片的定量分析方法。

参考文献:

[1] WS-03(B)89. 卫生部药品标准·化学药品及制剂(第一册) [S].

(收稿日期 2009-03-05, 修回日期 2009-06-15)

进样量 5 μL。

2.2 溶液制备

取本品 80 丸,精密称定,研细,取约 0.35 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,密塞,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)60 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液,即得供试品溶液。精密称取经五氧化二磷减压干燥 12 h 以上的三七皂苷 R_1 对照品 13.78 mg,人参皂苷 R_{g1} 对照品 56.72 mg 和人参皂苷 R_{b1} 对照品 41.86 mg,置 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液。取缺三七人參的阴性制剂 0.3583 g,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取 2.2 项 3 种溶液各 5 μL,分别注入液相色谱仪。结果显示阴性对照品溶液对测定无干扰(图 1)。

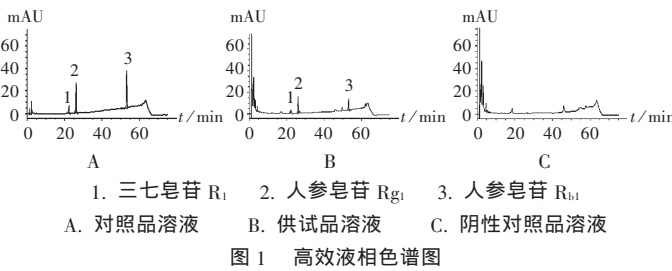


图 1 高效液相色谱图

标准曲线绘制:分别精密量取混合对照品溶液 1,3,5,7,10,

15,20 μL,注入液相色谱仪,以峰面积对进样量进行回归,得三七皂苷 R_1 回归方程 $A = 269.33C - 1.0681$, $r = 0.9997$ ($n = 7$);人参皂苷 R_{g1} 回归方程 $A = 297.47C - 0.6245$, $r = 0.9999$ ($n = 7$);人参皂苷 R_{b1} 回归方程 $A = 254.73C - 1.0623$, $r = 0.9999$ ($n = 7$)。结果表明,三七皂苷 R_1 进样量在 0.1378~2.7560 μg 范围内、人参皂苷 R_{g1} 在 0.5672~11.3440 μg 范围内、人参皂苷 R_{b1} 在 0.4186~8.3720 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 5 μL,重复进样 6 次,分别记录峰面积。结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 的 RSD 分别为 0.41%、0.51%、0.74% ($n = 6$)。

稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液,于 0,2,4,8,12,16,20,24 h 时依法测定。结果所得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 峰面积的 RSD 分别为 0.78%、0.54%、0.62% ($n = 8$),表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批(批号为 050406)样品,平行制备 6 份供试品溶液,依法进样测定。结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 峰面积的 RSD 分别为 0.84%、0.52%、0.33% ($n = 6$),表明方法的重复性良好。

加样回收试验:精密称取已知含量的同一批(批号为 050406)样品(分别含三七皂苷 R_1 9.80 mg/g、人参皂苷 R_{g1} 39.51 mg/g、人参皂苷 R_{b1} 29.91 mg/g)6 份,分别精密加入混合对照品溶液(分别含三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 0.1378、0.5672、0.4186 mg/mL)6,12,24 mL,按供试品溶液制备方法制成待测溶液(每份 25 mL),依法测定并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果($n = 6$)

取样量 (g)	样品含量(μg)			加入量(μg)			测得量(μg)			回收率(%)			$\bar{X}$ (%)			RSD(%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0.08770	0.1719	0.6930	0.5246	0.1654	0.6806	0.5023	0.3374	1.3675	1.0245	100.06	99.10	99.52						
0.08648	0.1695	0.6834	0.5173	0.1654	0.6806	0.5023	0.3327	1.3615	1.0128	98.67	99.63	98.65						
0.17610	0.3452	1.3915	1.0534	0.3307	1.3613	1.0046	0.6703	2.7362	2.0419	98.31	98.78	98.40	98.95	99.10	99.02	0.67	0.29	0.42
0.17420	0.3414	1.3765	1.0421	0.3307	1.3613	1.0046	0.6668	2.7261	2.0379	98.40	99.14	99.12						
0.34260	0.6715	2.7072	2.0494	0.6614	2.7226	2.0093	1.3285	5.4034	4.0442	99.33	99.03	99.28						
0.34590	0.6780	2.7333	2.0692	0.6614	2.7226	2.0093	1.3325	5.4270	4.0616	98.95	98.94	99.16						

注:A 为三七皂苷 R_1 ,B 为人参皂苷 R_{g1} ,C 为人参皂苷 R_{b1} (下同)。

2.4 样品含量测定

按供试品溶液制备方法制备溶液并测定,计算 10 批样品的含量。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n = 10$)

批号	平均丸重 (mg)	含量(mg/g)			合计
		A	B	C	
050203	20.36	9.49	37.64	29.34	76.47
050304	20.52	10.01	39.99	32.10	82.10
050305	20.25	9.35	39.12	29.67	78.14
050406	20.43	9.80	39.51	29.91	79.22
050507	20.75	9.58	39.14	29.51	78.23
050608	20.61	9.65	39.32	29.44	78.41
050609	20.66	9.43	38.90	29.03	77.36
050710	20.40	10.21	42.14	32.11	84.46
050811	20.20	9.22	39.13	29.13	77.48
050912	20.32	9.93	40.03	30.03	79.99

3 讨论

三七为心灵丸的主药之一,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 为其特征性有效成分,通过测定其含量能有效地控制药品

的质量。人參也含有人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} ,故试验采用三七人參双阴性样品。分别取三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 对照品(约 0.1 mg/mL),在 400~190 nm 波长范围内扫描,结果在 203 nm 波长处有最大吸收,参考文献[1-4],确定 203 nm 为测定波长。对提取溶剂、提取时间及提取方式均进行了优化试验,结果用甲醇提取效果优于 50% 甲醇和乙醇,加热回流提取(60 min)效果与超声提取(60 min)比较无显著性差异,故选择甲醇超声提取 60 min 作为提取条件。

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:化学工业出版社,2005:10-11.
[2] 刘灿仿,文耀琴,王弘,等. RP-HPLC 梯度洗脱法测定心脑贯通滴丸中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 及人参皂苷 R_{b1} 的含量[J]. 中成药,2007,29(8):1167-1169.
[3] 杨雪梅,刘旭,刘艳山,等. 高效液相色谱法测定三七中三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的含量[J]. 时珍国医国药,2005,16(8):710-711.
[4] 郭子杰,黄儒强. 三七中总皂苷的含量测定[J]. 中国药业,2007,16(7):13-14.

(收稿日期 2008-09-15)