

· 药剂与工艺 ·

## HPLC-ELSD及紫外分光光度法测定三七中皂苷的含量

中国药科大学(南京 210038) 江英桥\* 王强 马世平 党学东

**摘要** 采用反相高效液相色谱蒸发激光散射检测器测定三七中人参皂苷  $R_{g1}$  的含量。色谱柱为 CLC-ODS (6.0 mm $\times$  150 mm), 流动相为乙腈-水 (30:70), 蒸发激光散射检测器。定量方法简单、准确。回收率为 100.50%,  $RSD$  为 1.82%。并用紫外分光光度法测定了三七中总皂苷的含量, 结果和 HPLC 法基本一致, 说明该方法定量准确, 回收率为 101.50%,  $RSD$  为 1.44%。结论认为两方法均可以控制三七的质量。

**关键词** 三七 HPLC-ELSD 人参皂  $R_{g1}$  总皂苷 紫外分光光度法

### Quantitative Determination of Saponins in the Root of *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* by HPLC-ELSD and UV Spectrophotometry

China Pharmaceutical University (Nanjing 210038) Jiang Yingqiao, Wang Qiang, Ma Shiping and Dang Xuedong

**Abstract** A reverse phase HPLC-ELSD method for the determination of ginsenoside  $R_{g1}$  in the root of *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng was reported. Chromatographic conditions: Shim-pack CLC-ODS column (6.0 mm $\times$  150 mm); acetonitrile-water (30:70) as the mobile phase; Shimadzu LC-6A with SEDEX-55 ELSD detector. The method was found to be simple and accurate with recovery rate of 100.50% and  $RSD=1.82\%$ . The established UV spectrophotometric determination of total saponins in *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng* was also tried and gave an accurate result coincidental with that of the HPLC results. The recovery rate was 101.50%, and  $RSD=1.44\%$ . It seemed that both methods can be used reliably for the quality control of *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng*.

**Key words** *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng HPLC-ELSD ginsenoside  $R_{g1}$  total saponins UV spectrophotometry

三七中皂苷类成分的含量测定可采用 HPLC-UV<sup>[2]</sup>及 HPLC-RI法<sup>[3]</sup>。前者用紫外检测器  $\lambda=203$  nm 检测, 因三七中皂苷类成分紫外吸收较差, 受试剂影响很大, 基线漂移大, 使分析很难进行; 后者用示差检测器, 则灵敏度低, 稳定性和选择性均较差。我们首次采用 HPLC-ELSD 法对三七中主要皂苷人参皂苷  $R_{g1}$  进行了含量测定, 并用紫外分光光度法测定了总皂苷的含量。因 ELSD 检测器为质量型检测器, 且不受外部环境的干扰, 试剂在检测器中全部蒸发, 不干扰检测, 灵敏度及稳定性均符合含量测定的要求。

总皂苷的含量测定方法有重量法<sup>[4]</sup>、比色法<sup>[5]</sup>和紫外分光光度法<sup>[6]</sup>。重量法测定的总皂苷实际上是正丁醇提取物, 并不代表总皂苷; 比色法因显色不稳定, 致使重现性较差; 我们首次采用紫外分光光度法测定三七中总皂苷的含量, 经方法学验证, 本法准

确, 重现性良好。

#### 1 仪器与试剂

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, 法国 SEDEX 55 型蒸发激光散射检测器 (ELSD); 杭州英谱 HS 色谱数据工作站; 岛津 UV-2501 pc 紫外分光光度计。试剂均为色谱纯或分析纯。人参皂苷  $R_{g1}$  由中国药品生物制品检定所提供。

#### 2 三七中人参皂苷 $R_{g1}$ 的含量测定

2.1 色谱条件: 色谱柱为日本岛津 Shim-pack CLC-ODS 柱 (6.0 mm $\times$  150 mm); 流动相乙腈-水 (30:70); 柱温 45 $^{\circ}C$ ; 流速 0.5 mL/min; ELSD 检测器漂移管温度 90 $^{\circ}C$ ; 载气压力 0.20 MPa。在此条件下, 样品中人参皂苷  $R_{g1}$  与其他相关峰均能达到基线分离。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取人参皂苷  $R_{g1}$  对照品适量, 用甲醇溶解, 制成 1 mg/mL 的溶液。

\* Address: Jiang Yingqiao, China Pharmaceutical University, Nanjing

江英桥 男, 1992年毕业于广州中医药大学, 获硕士学位, 1992年分配到中华人民共和国广州口岸药品检验所工作, 1998年至今为中国药科大学药学博士, 参与了《中国药典中药薄层色谱彩色图集》的编著工作。参与的《进口非药典天然药物制剂检验方法研究》获得国家科技进步三等奖, 国家中医药管理局科技进步二等奖, 省中医药管理局一等奖。主要从事中药及其制剂的分析工作。

2.3 供试品溶液制备:取3.1项下的供试品溶液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线制备:分别精密吸取对照品溶液1, 2, 3, 4, 5, 6  $\mu$ L,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积的自然对数为纵坐标,以浓度的自然对数为横坐标,绘制标准曲线,其回归方程为  $Y = 11.322 + 1.503X$ ,  $r = 0.9996$  结果表明人参皂苷  $R_{g1}$  在1.0~6.0  $\mu$ g范围内呈良好的线性。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液5  $\mu$ L,重复进样5次,结果  $RSD$  为1.26%,证明精密度良好。

2.6 重现性试验:取同一样品6份,分别按样品测定条件测定,结果  $RSD$  为2.78%,表明重现性良好。

2.7 样品测定:分别精密吸取上述对照品溶液2, 5  $\mu$ L,供试品溶液10  $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以外标两点法求出含量。结果见表1。

表1 样品中三七皂苷的含量测定

产地	人参皂苷 $R_{g1}$ (%)	$RSD$ (%)	总皂苷 (%)	$RSD$ (%)
云南文山(40头)	3.04	1.66	7.25	1.57
云南文山(90头)	2.79	2.60	6.81	3.02
云南文山(270头)	2.93	2.21	6.70	2.70
广西靖西(40头)	2.47	1.91	6.44	2.02
广西靖西(60头)	2.14	2.08	5.58	1.81
西安(60头)	3.94	1.89	9.08	1.34
杭州(80头)	2.34	2.28	7.80	2.56

2.8 回收率试验:取已知含量的样品0.25g,精密称定,分别加入对照品,按样品制备方法测试条件测定,结果回收率为100.50%,  $RSD = 1.82\%$ 。

2.9 稳定性试验:精密吸取对照品溶液5  $\mu$ L,隔1h进样1次,共进样8次,测得对照品峰面积积分值,计算  $RSD$  为2.35%,证明人参皂苷  $R_{g1}$  在7h内稳定。

### 3 三七中总皂苷的含量测定

3.1 供试品溶液的制备:取本品粉末约0.5g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚80mL,水浴上提取2h,取出,弃去乙醚液,再加甲醇80mL提取4h,甲醇提取液蒸干,残渣加水15mL使溶解,水溶液置分液漏斗中,用水饱和的正丁醇萃取5次,每次15mL,正丁醇提取液用正丁醇饱和的水洗涤5次,每次15mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解,置50mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

人参皂苷  $R_{g1}$  对照品溶液的制备:精密称取人参皂苷  $R_{g1}$  对照品5mg,置100mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

3.2 紫外吸收光谱:取供试品溶液1mL,标准品溶液3mL,按照样品含量测定项下操作,在紫外分光光度计上扫描,得紫外吸收光谱。

结果表明,供试品紫外吸收曲线及最大吸收波长268nm与人参皂苷  $R_{g1}$  标准品完全一致,可直接采用紫外分光光度法测定供试品中总皂苷的含量。

3.3 标准曲线制备:分别精密吸取对照品溶液0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0mL置10mL量瓶中,置水浴中挥尽溶剂,取出,加浓硫酸0.6mL,摇匀,置80 $^{\circ}$ C水浴中加热1h,取出,置冰浴中加95%乙醇至刻度,摇匀,照分光光度法(中国药典1995年版一部附录31页),以第1管为空白,在268nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。经回归统计,得标准曲线方程:  $A = 39.6856C + 0.0148$ ,  $r = 0.9996$  浓度在5.04~25.20  $\mu$ g/mL范围内,与吸光度呈线性关系。

3.4 回收率试验:取已知含量的样品5份,精密称定,分别加入一定量的人参皂苷  $R_{g1}$  对照品,按照标准曲线制备项下操作,结果回收率为101.15%,  $RSD = 1.44\%$  ( $n = 5$ )。

3.5 稳定性试验:精密吸取供试品溶液1.0mL,按照标准曲线制备项下操作,每隔30min测定1次,共测定7次,计算  $RSD$  为1.35%,证明总皂苷在3h内稳定。

3.6 精密度试验:精密吸取人参皂苷  $R_{g1}$  对照品溶液3.0mL,共5份,按标准曲线制备项下操作。分别测定吸光度,结果  $RSD$  为1.23% ( $n = 5$ )。

3.7 重现性试验:取同一样品5份,分别按样品测试条件测定,结果  $RSD$  为2.56%,表明重现性良好。

3.8 样品的含量测定:精密吸取供试品溶液1.0mL,按照标准曲线制备项下操作,在268nm波长处测定吸光度。从标准曲线上读出供试品溶液相当于标准品溶液的浓度,计算,即得。结果见表1。

### 4 讨论

4.1 ELSD是一种通用型检测器,流动相由热气流使之热气化喷雾,再进入加热管,溶剂在此挥发。所得分析检测的物质颗粒通过一狭窄光束散射光,由光电倍增管收集。ELSD的响应取决于被分析物质颗粒的数量和大小。由于ELSD仅对不挥发被分析物质产生响应,即使是在梯度洗脱时也能提供平衡的基线。ELSD已成功用于皂苷、生物碱、萜类内酯、氨基酸和糖类等分析,是分析无紫外吸收及紫外吸

收弱成分的有力工具

4.2 利用苷的糖基糠醛生成反应,在紫外区有最大吸收<sup>[7]</sup>,可用紫外分光光度法测定总皂苷的含量,该法较比色法及重量法操作简单,重现性良好,灵敏度较高

参考文献

1 真田修一. 药学杂志, 1978, 98 1048

2 粟晓黎,王宝琴. 中成药, 1990, 12(3): 10  
 3 邱峰,孙毅坤. 中国中药杂志, 1996, 21(11): 672  
 4 卫生部药政管理局编. 进口传统药及天然药物制剂质量标准. 北京: 人民卫生出版社, 1990 1  
 5 周志华,章观德,王菊芬. 药理学报, 1981, 16(7): 535  
 6 金斌,汪海孙,郑军. 中成药, 1994, 16(6): 40  
 7 北京医学院. 中草药成分化学. 北京: 人民卫生出版社, 1980 185

(2000-03-26收稿)

## 射干及其鸢尾属代用品中芒果苷的定量分析

南京中医药大学(210029) 刘训红\* 潘金火  
 江苏苏宁医药科技有限公司 王玉玺

**摘要** 以活性成分芒果苷(mangiferin)作为质控指标,用 RP-HPLC法对 7个野生或栽培的射干、1个射干的茎叶和 3个射干的代用品,共 11个样品进行了分析。结果表明:射干中的芒果苷含量明显高于其代用品:川射干(鸢尾 *Iris tectorum*)和白射干(野鸢尾 *I. dichotoma*)。不同产地的射干也有一定的含量差异( $P < 0.05$ )。但野生和栽培的射干,以及根茎和茎叶之间的芒果苷含量则无显著性差异( $P > 0.05$ )。本法快速简便,重现性好,测定数据可作为射干质量控制和品质评价的可靠依据。

**关键词** 射干 川射干 白射干 芒果苷 RP-HPLC 定量分析

## Quantitative Determination of Mangiferin in *Rhizoma Belamcandae* and Its Substitute of *Iris L.*

Nanjing University of TCM (Nanjing 210029) Liu Xunhong and Pan Jinhua  
 Total Hospital in Nanjing Military Region Wang Yuxi

**Abstract** Mangiferin, one of the active constituents of *Rhizoma Belamcandae*, in samples of *Belamcanda chinensis* (L.) DC. or its substitute was determined quantitatively by RP-HPLC. The 11 samples collected from different localities for analysis were 7 rhizomes of wildy grown or cultivated *B. chinensis*, 1 of its leaf and stem, and 3 substitutes (a wildy grown and another commercially available *Iris tectorum* Maxim. and a *I. dichotoma* Pall.). Results of the analysis showed that the contents of mangiferin in *Rhizoma Belamcandae* were significantly higher than that of its substitutes *I. tectorum* and *I. dichotoma*. There were also certain significant differences between samples from different localities ( $P < 0.05$ ), but with no statistically significant difference between the rhizome or leaf and stem, neither between cultivated and wildy grown samples, ( $P > 0.05$ ). The method was proved to be quick, simple and reproducible, and may provide a reliable basis for the quality control and evaluation of *B. chinensis*.

**Key words** *Belamcanda chinensis* (L.) DC. *Iris tectorum* Maxim. *Iris dichotoma* Pall. mangiferin RP-HPLC quantitative analysis

中药射干为鸢尾科射干属植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎,系中国药典(1995年版一部)收载的品种。具有清热解毒、消炎利咽的功能。由于地区用药习惯不同,加之市场紧俏,大量栽培,造成商品药材品种混乱,质量不一,市售商品除射干外,还有鸢尾属(*Iris*)植物的根茎在不

同地区代射干使用,西南地区用川射干(鸢尾 *I. tectorum* Maxim.),陕西等地用白射干(野鸢尾 *I. dichotoma* Pall.),两广一带用射干的茎叶作射干药用。对射干中射干苷、鸢尾苷的含量分析已有报道<sup>[1-3]</sup>。本文以射干另一有效成分芒果苷(mangiferin)作为质控指标,用 RP-HPLC法对射干

\* Address: Liu Xunhong, Nanjing University of TCM, Nanjing

刘训红 男,1986年毕业于南京中医学院中药鉴定专业研究生毕业,硕士学位,现为南京中医药大学副教授,《中华本草》药材专业副主任委员,主要从事中药材品质鉴定研究,主持或参加了“江苏地产药材太子参的活性成分研究”、“中华本草”等 6个省级以上科研课题,公开发表学术论文 40余篇,编写出版了《中药材薄层色谱鉴别》、《中华本草》、《中药学百科全书》等 6本专著。