

12.8最大,回收率 $y=98.3\%$ 。

甘草饮片提取液,当 $V_{\text{乙醇}}=6\text{ mL}$, $V_{\text{浓缩液}}=4\text{ mL}$,磷酸氢二钾为 1.5 g ,加酸后提到结晶 0.052 g ,结晶是白色松散粉末 与传统工艺相比,工艺简洁,且结晶性状 纯度较高。

乙醇 磷酸氢二钾是基于与水互溶的有机溶剂和盐水相的双水相萃取体系,具有溶剂价廉、低毒、较易挥发而无需反萃取和避免使用粘稠水溶性高聚物等特点,易回收、易处理 操作简便 这种新型的萃

取体系在中草药有效成分提取中的应用还未见报道,用此体系萃取其他中药有效成分还需继续研究。

参考文献:

- [1] 梅乐和,朱自强.酶的双水相体系萃取分离技术[J].现代化工,1991,11(6): 15-19.
- [2] 王志华,马会民,马泉莉,等.双水相萃取体系的研究[J].应用化学,2001,18(3): 173-175.
- [3] 北京中医学院.中医药化学[M].贵阳:贵州人民出版社,1990.
- [4] 梁生旺,刘伟.中药制剂定量分析[M].北京:中国中医药出版社,1997.

HPLC法同时测定三七总皂苷中人参皂苷 R_g 与 R_b 的含量

梁宁¹,赵怀清¹,周迎春¹,曲燕¹,鲁鑫焱¹,张福蔓^{2*}

(1. 沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药大集琦药业有限责任公司,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立 HPLC同时测定三七总皂苷中人参皂苷 R_g 与 R_b 的方法。方法 采用 HPLC法,以茶碱为内标,氨基键合相为固定相,流动相为乙腈-水(80:20),检测波长 203 nm 。结果 三七总皂苷中人参皂苷 R_g 和 R_b 与其他成分分离良好,保留时间分别约为 5.7 和 21.5 min 。人参皂苷 R_g 在 $80\sim 280\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9995$), R_b 在 $80\sim 240\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9993$) 线性关系良好, R_g 和 R_b 加样回收率分别为 97.1% 和 98.4% , RSD 分别为 2.44% 和 2.35% ($n=9$)。结论 本法操作简便,准确,重现性好,可用于人参及三七的质量控制。

关键词: 三七总皂苷;人参皂苷 R_g ;人参皂苷 R_b ;高效液相色谱法

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2002)08-0704-02

Determination of ginsenoside R_g and R_b in total saponins of *Panax notoginseng* by HPLC

LIANG Ning¹, ZHAO Huai-qing¹, ZHOU Ying-chun¹, QU Yan¹, LU Xin-yan¹, ZHANG Fu-man²

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Shenyang Yaodajiqi Pharmaceutical Co., Ltd., Shenyang 110016, China)

Key words total saponins of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; ginsenoside R_g ; ginsenoside R_b ; HPLC

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根,有散瘀止血、消肿定痛的功效,用于咯血、吐血、衄血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌扑肿痛等。三七总皂苷主要有效成分为人参皂苷 R_g 和 R_b 。《中华人民共和国药典》2000年版一部采用薄层色谱法以人参皂苷 R_g 和 R_b 为指标进行含量测定。目前有关文献报道测定人参单体皂苷的方法有薄层光密度法^[1],薄层扫描法^[2],高效液相色谱法^[3-6]。而在同一色谱条件下以内标法同时测定多种皂苷含量的方法未见报道。本实验采用氨基柱,流动相配比简单,以茶碱作内标,使人参皂苷 R_g 与 R_b 与三七总皂苷中的其他

成分及内标物均达到较好分离。实验证明,该方法准确可靠,重现性好,能够有效地测定三七总皂苷中人参皂苷 R_g 和 R_b 的含量。

1 仪器、试剂与材料

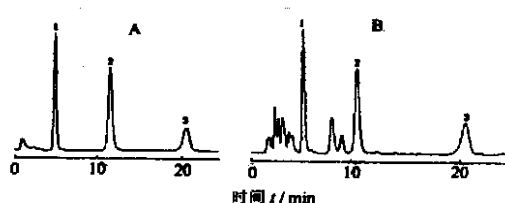
日立 L-7110型高效液相色谱仪,日立 L-7400型紫外检测器,江申色谱工作站,DT-100A光电天平。人参皂苷 R_g (0703-200015)与人参皂苷 R_b (0704-200012)对照品由中国药品生物制品检定所提供;三七总皂苷原料由沈阳药科大学天然药化研究室王金辉副教授提供,乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

* 收稿日期: 2001-10-15

作者简介: 梁宁 (1967-),女,辽宁沈阳人,工程师,药物分析专业硕士研究生,研究方向为中药材和中成药质量评价方法以及中药药理学研究。Tel (024) 23902568 E-mail zfm11@online.ln.cn

2.1 色谱条件: 色谱柱为 N H P-50柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水 (80:20), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 203 nm, 柱温为室温, 进样量为 20 μ L。在此色谱条件下, 对照品与样品的色谱图见图 1。



1-人参皂苷 R_{g1} 2-茶碱 3-人参皂苷 R_{b1}

图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 色谱图

2.2 对照品溶液及内标溶液制备: 精密称取人参皂苷 R_{g1} 5 mg 及人参皂苷 R_{b1} 4 mg, 分别置 5 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。

取茶碱约 7.5 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 作为内标溶液。

2.3 供试品溶液制备: 精密称取三七总皂苷原料约 8 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加内标溶液 0.4 mL, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.4 线性范围考察: 分别精密吸取人参皂苷 R_{g1} 对照品溶液 0.08, 0.12, 0.16, 0.20, 0.24, 0.28 mL 和人参皂苷 R_{b1} 对照品溶液 0.10, 0.14, 0.18, 0.22, 0.26, 0.30 mL 及内标溶液 0.04 mL, 用流动相定容至 1 mL, 得到系列浓度的对照品混合溶液, 分别进样, 以对照品溶液浓度为横坐标 (X), 对照品与内标物峰面积比为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的回归方程分别为: $Y = 0.0038X + 0.0217$ ($r = 0.9995$) 和 $Y = 0.003X - 0.0696$ ($r = 0.9993$), 人参皂苷 R_{g1} 在 80~280 μ g/mL, 人参皂苷 R_{b1} 在 100~300 μ g/mL 呈现良好线性关系。

2.5 精密度试验: 取 2.4 项下同一对照品溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的色谱峰与内标物的峰面积比值的 RSD 分别为 0.26% ($n = 6$) 和 1.21% ($n = 6$)。

2.6 重现性考察: 按 2.3 项下平行制备 5 份供试品, 测定含量, 人参皂苷 R_{g1} 与 R_{b1} 的平均含量分别为 237.1 mg/g ($RSD = 1.14\%$) 和 285.2 mg/g ($RSD = 1.04\%$)。

2.7 稳定性试验: 取供试品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样 20 μ L, 测得人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的色

谱峰与内标物的峰面积比值的 RSD 分别为 1.63% ($n = 6$) 和 1.74% ($n = 6$)。结果表明 12 h 内供试品溶液基本稳定。

2.8 回收率试验: 精密称取已知含量的样品, 分别加入人参皂苷 R_{g1} 与 R_{b1} 及内标溶液适量, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 在上述色谱条件下取 20 μ L 进样, 结果人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的平均回收率及其 RSD 分别为 97.1%, 2.44%; 98.4%, 2.35% ($n = 9$)。

2.9 样品测定: 按 2.3 项下制备供试品溶液, 取 20 μ L 注入高效液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 采用工作曲线计算人参皂苷 R_{g1} 的含量为 237.3 mg/g ($RSD = 1.31\%$, $n = 3$), 人参皂苷 R_{b1} 的含量为 287.6 mg/g ($RSD = 1.14\%$, $n = 3$)。

3 小结与讨论

3.1 色谱条件的选择: 文献报道采用 ODS 柱较多, 大多是对一种人参皂苷单体进行定量, 我们分别用 ODS 柱和氨基柱以甲醇-水, 甲醇-水-磷酸, 乙腈-甲醇-水, 乙腈-水以不同比例的流动相对色谱条件进行了考察。实验结果表明, ODS 柱分离效果较差。文献中同时测定多种皂苷成分采用的是梯度洗脱法, 对设备要求高, 重复性差。本法采用氨基键合相, 乙腈-水 (80:20) 的二元溶剂系统为流动相, 配比简单, 就可使人参皂苷 R_{g1} 与相邻峰分离较好, 人参皂苷 R_{b1} 的保留时间适中。

3.2 内标物的选择: 文献报道未见采用内标法对人参皂苷 R_{g1} 与 R_{b1} 的含量测定, 采用上述色谱条件, 人参皂苷 R_{g1} 的 $t_R = 5.7$ min, 人参皂苷 R_{b1} 的 $t_R = 21.5$ min。为了减小定量误差, 并获得较好的重现性, 经过考察几种物质, 最终选用茶碱作为内标, 其 $t_R = 12.2$ min, 与相邻峰分离度均大于 1.5。

参考文献:

- [1] 周志华, 章观德, 王菊芬. 三七中皂甙成分分析的研究 [J]. 药学报, 1981, 16(7): 535-540.
- [2] 李民生, 童湘辉, 韩长柏. 冠心安口服液中含人参皂苷 R_{g1} 的薄层扫描测定 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(8): 569-570.
- [3] 郭永利, 孟 芹. HPLC 法测定云南红药中含人参皂苷 R_{g1} 含量 [J]. 药物分析杂志, 2001, 21(1): 58-59.
- [4] 刘 军, 王燕桓, 傅承光. HPLC-光敏二极管阵列检测法测定人参单体皂甙的研究 [J]. 中草药, 1998, 29(4): 228-230.
- [5] 王 旭, 周富荣. HPLC 法测定西洋参中人参皂苷 R_{b1} 的含量 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(4): 227-228.
- [6] 王 梅, 范亚刚, 高文分. RP-HPLC 梯度洗脱法同时测定三七总皂苷及血塞注射液液中三种皂苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(6): 410-412.