

品应蔽光、冷藏。

2.9 重现性试验:取同一批号样品 5 份,分别制备供试品溶液,各吸取 10 μL 进行测定,阿魏酸含量的 $RSD=0.45\%$ 。

2.10 加样回收率试验:精密称取已知阿魏酸含量的样品 5 份,分别加入一定量的阿魏酸对照品,依法测定,结果平均回收率为 98.3%, $RSD=0.90\%$ 。

2.11 样品的测定:按上述测定法,对 10 批样品进行了阿魏酸的含量测定,结果见表 2。

表 2 生化软胶囊中阿魏酸含量测定结果 ($n=3$)

Table 2 Content of ferulic acid in 10 batch of Shenghua Soft Capsule ($n=3$)

批号	阿魏酸含量/(mg·粒 ⁻¹)
001016	0.202 1
001108	0.200 3
001109	0.180 0
001113	0.184 1
001219	0.179 6
001220	0.187 7
001225	0.156 6
001226	0.181 0
001227	0.205 2
001228	0.181 0

3 讨论

3.1 流动相的选择:曾参考有关文献^[1-3]采用甲醇-水(4%醋酸)及乙腈-水乙酸(25 75 1)作为流动相。实验证明,以本实验所采用流动相分离效果最好。

3.2 提取方法的选择:曾参考文献^[1,4]采用超声提取法、萃取法等方法,经加样回收率试验证明,以本实验中所用提取方法最好。

3.3 经稳定性试验证明,虽然样品溶液在室温光照和加热的情况下不稳定,但是样品溶液配制好后,避光、冷藏,8 h 内进行测定基本不受影响。因此,本方法可以作为控制生化软胶囊的质量标准。

References:

[1] Zhang L K, Chen X W, Zou A Q. Determination of ferulic acid and ligustrazine in compound formula preparations by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(4): 213-214.

[2] Wang H J, Shen X, Yang J, et al. Determination of ferulic acid in Danggui Buxue Decoction by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1998, 4(5): 9-10.

[3] Yang N L, Yang W Y, Yang Z H. Determination of ferulic acid in Shenghuatang Oral Liquid by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1999, 19(2): 88-89.

[4] Yu J, Jiang Y Y, Zhang X. Determination of ferulic acid in Danggui Injection by HPLC [J]. *J Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医学院学报), 1999, 18(5): 67-68.

HPLC 法测定西洋参茎叶总皂苷降解物中 20 (S)-人参皂苷 R_{g3} 的含量

孟 勤¹, 尹建元¹, 赵俊艳², 梁 迪^{1*}

(1. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学制药厂, 吉林 长春 130021)

西洋参 *Panax quinquefolium* L. 为五加科人参属植物, 根部入药。1998 年尹建元等从野山参茎叶皂苷中首次分离得到人参皂苷 R_{g3}^[1]。2002 年孟勤等从西洋参叶中首次分离得到人参皂苷 R_{g3}^[2]。人参皂苷 R_{g3} 具有明显抑制乙酰胆碱刺激牛肾上腺素嗜铬细胞分泌儿茶酚胺的作用^[3], 并且人参皂苷 R_{g3} 毒性小, 生物活性强, 是很具有开发价值的天然活性成分, 但人参皂苷 R_{g3} 在自然界存在甚少。为了获得大量人参皂苷 R_{g3}, 我们采用西洋参茎叶提纯总皂苷并制备二醇组皂苷^[4], 再将二醇组皂苷进行降解制备人参皂苷 R_{g3}。本实验采用 HPLC 法测定了西洋参降解物中 20(S)-人参皂苷 R_{g3} 的含量。

1 仪器与试药

美国 Waters 600E 双泵头柱塞往复泵, Waters

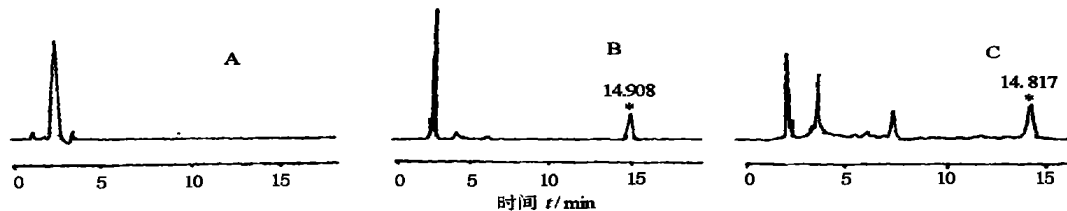
2478 双波长紫外检测器, chromstation 数据处理系统; 20 (S)-人参皂苷 R_{g3} 对照品由本室自制, 经高效液相色谱归一化法测定其含量为 98% 以上。甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总皂苷降解物的制备: 二醇组皂苷在 150 , pH 值为 12 的条件下, 水解 3 h 后, 得西洋参茎叶皂苷降解物。按以上条件制备 3 批西洋参茎叶皂苷降解物, 批号分别为 010429, 010608, 010715。

2.2 色谱条件: 色谱柱为惠普产 Zorbax ODS 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (84 16); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 40 ; 检测波长: 203 nm。在此条件下 20 (S)-人参皂苷 R_{g3} 与其它峰分开 (图 1)。

* 收稿日期: 2002-04-24



* -20 (S)-人参皂苷 Rg_3

* -20 (S)-ginsenoside Rg_3

图 1 溶剂峰(A)、20 (S)-人参皂苷 Rg_3 (B) 和西洋参总皂苷降解物 (C) 的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of solvent peak (A), 20 (S)-ginsenoside Rg_3 (B) and degradation products of ginsenoside in *P. quinquefolium* (C)

2.3 测定波长的选择: 取 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 对照品适量, 在紫外分光光度计 190~300 nm 波长下扫描。结果 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 在 203 nm 波长处有最大吸收, 故选择 203 nm 作为测定波长。

2.4 线性关系的考察: 精密称取 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 3.0 mg 置于 10 mL 的量瓶中, 以甲醇配制成 0.3 mg/mL 的溶液, 放入超声波清洗器中超声 10 min。精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ L 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 计算得回归方程为 $Y = 126\,545X - 33\,263$, $r = 0.999\,9$, 线性范围为 0.3~3.6 μ g。

2.5 稳定性试验: 精密吸取同一样品溶液 5 μ L, 每间隔 1 h 进样一次, 共进样 6 次, 测得 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 峰面积的结果表明样品溶液在 5 h 内基本稳定。

2.6 精密度试验: 精密吸取同一样品溶液 5 μ L, 重复进样 6 次, 测得 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 峰面积的 RSD 为 0.97%。

2.7 重现性试验: 精密吸取同一批样品溶液 5 份, 依次平行测定 6 次, 结果 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 峰面积 RSD 为 1.82%。

2.8 回收率试验: 精密称取已测得含量的同一批样品 10 mg, 分别加入对照品适量, 依法测定, 计算回收率。其平均回收率为 99.58%, RSD = 0.49%。

2.9 样品测定: 精密称取降解物 20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 放入超声波清洗器中超声 10 min 后稀释至刻度, 摇匀, 用针筒式微孔过滤器过滤, 取续滤液为供试品。吸取 5 μ L 注入高效液相色谱

仪中进行分析, 结果 3 批样品中 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 的含量分别为 16.28%, 16.43%, 16.35% ($n = 5$)。

3 讨论

3.1 本实验试用过的流动相有: 甲醇-水-磷酸 (87 13 0.2), 甲醇-水-磷酸 (85 15 0.2), 甲醇-水 (84 16), 最终选用以甲醇-水 (84 16) 为流动相, 结果 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 峰与其他峰完全达到基线分离, 定量结果准确。

3.2 在降解制备 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 的过程中发现, 制备条件 (如压力、温度及 pH 值) 的变化对 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 在其降解物中含量有较大的影响, 故只有在制备条件一致情况下, 方能制得相同 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 含量的西洋参皂苷降解物。

3.3 由于 20 (S)-人参皂苷 Rg_3 在甲醇中的溶解度相对较小, 对照品及样品在加入少量甲醇后, 须经超声波清洗器超声 10 min, 使其充分溶解, 然后用甲醇定溶, 以免影响含量测定的准确度。

References:

- [1] Yin J Y, Li J, Wei Y D. Isolation and identification of saponins in stems and leaves of wild *Panax Ginseng* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(11): 731-732.
- [2] Meng Q, Yin J Y, Zhao J Y, et al. Isolation and identification of triterpenoids saponins in stems and leaves of *Panax quinquefolium* L. [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2002, 37(3): 175-177.
- [3] Tachikawa E, Kudo K, Nunokawa M, et al. Characterization of ginsenoside Rg_3 inhibition of catecholamine secretion in bovine adrenal chromaffin cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 62(7): 943-951.
- [4] Chen Y P, Meng Q, Song C C, et al. Preparation of 20 (S)-protopanaxadiol saponins and 20 (S)-ginsenoside Rh_2 from 20 (S)-protopanaxadiol saponins [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1997, 32(5): 273-275.