

RP-HPLC 法测定三七总皂苷中 3 种皂苷

胡 静¹, 张铁军², 许 浚²

(1. 天津中医学院, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

三七总皂苷是从五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根中提取的总皂苷, 为三七活血化瘀的主要有效部位, 具有活血祛瘀、通脉活络、改善血液循环的功效, 是许多心脑血管药的主要原料。其中以人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、三七皂苷 R₁ 最高, 常作为其质量控制指标。目前有关文献报道测定三七单体皂苷的方法有薄层扫描法、高效液相色谱法等^[1~3]。本实验采用一种更加快速、简便、准确的方法测定三七总皂苷中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、三七皂苷 R₁, 为有效地控制三七总皂苷的质量提供依据。

1 仪器与试剂

Dionex 高效液相色谱仪, P680 四元泵, 170U 紫外检测器, ASI-100 自动进样器。Chromleon 色谱工作站。Sartorius 十万分之一电子天平, Mettler Toledo 万分之一电子天平。

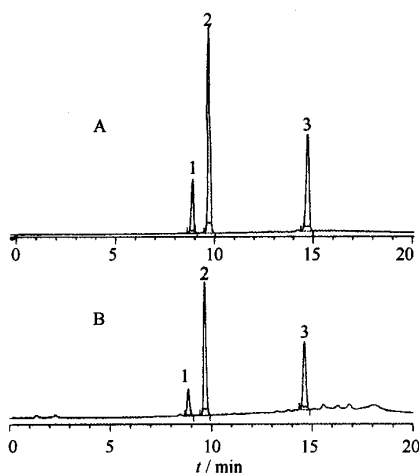
对照品: 三七皂苷 R₁, 人参皂苷 Rg₁, 人参皂苷 Rb₁ (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110745-200312、110703-200322、110704-200318), 三七总皂苷由云南植物药业有限公司生产。乙腈为色谱纯, 购自天津市康科德科技有限公司, 水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Dikma C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水线性梯度洗脱: 0~13 min (20:80), 13~19 min (40:60), 19~30 min (20:80); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 203 nm; 柱温: 35 °C。

2.2 系统适应性试验: 在上述液相色谱梯度洗脱系统条件下, 所得液相色谱图 (图 1) 中 3 种被测组分分离度符合要求, 并能将其他皂苷及干扰组分分离。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 对照品各 4.31、14.68、12.58 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加 20% 乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别作为人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、三七皂苷 R₁ 的对照品溶液。精密吸取上述 3 种对照品溶液各 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加



1-三七皂苷 R₁ 2-人参皂苷 Rg₁ 3-人参皂苷 Rb₁
1-notoginsenoside R₁ 2-ginsenoside Rg₁ 3-ginsenoside Rb₁

图 1 混合对照品 (A) 和三七总皂苷 (B) 的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and total saponins of *P. notoginseng* (B)

20% 乙腈稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备: 称取三七总皂苷约 25 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 20% 乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.5 线性关系及线性范围: 取三七皂苷 R₁ 对照品溶液, 分别以 2、4、8、12、16、20 μL 进样, 测定峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归方程; 人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 对照品溶液操作同上, 结果见表 1。

表 1 3 种组分线性关系测定结果

Table 1 Results of linear ranges of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, and Rb₁

指标成分	回归方程	r	线性范围/μg
三七皂苷 R ₁	Y=5.381 X-5.786	0.999 9	0.431~8.62
人参皂苷 Rg ₁	Y=5.977 X+7.807	0.999 9	1.468~29.36
人参皂苷 Rb ₁	Y=4.462 X-36.617	0.999 8	1.258~25.16

2.6 精密度试验: 取上述供试品溶液于测定条件下进样 20 μL, 重复进样 6 次, 以 3 种组分峰面积分别计算, 结果三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 的 RSD

分别为 0.66%、0.79%、1.58%。

2.7 稳定性试验:取上述供试品溶液分别于 0、1、2、4、6、8 h,进样 20 μ L,测定各组分峰面积,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的 RSD 分别为 0.35%、0.14%、0.49%,结果供试品溶液在 8 h 内是稳定的。

2.8 重现性试验:精称同一批次三七总皂苷 6 份,加 20%乙腈溶解,制成 1 mg/mL 的供试品溶液,进样 20 μ L,以峰面积外标法计算测定质量分数,结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的 RSD 分别为 2.02%、2.25%、2.09%。

2.9 加样回收率试验:取同一批次三七总皂苷 9 份,约 1 g,精密加入三七皂苷 R_1 对照品 63.69、78.17、92.64 μ g,人参皂苷 R_{g1} 对照品 202、342、388 μ g,人参皂苷 R_{b1} 对照品 246、270、363 μ g,按供试品溶液制备处理,测定,计算回收率,结果三七皂苷 R_1 的平均回收率为 101.0%,RSD 为 2.2% ($n=9$);人参皂苷 R_{g1} 的平均回收率为 98.5%,RSD 为 1.8% ($n=9$);人参皂苷 R_{b1} 的平均回收率为 100.8%,RSD 为 2.0% ($n=9$)。

2.10 样品测定:5 批三七总皂苷原料,每批重复测定 2 次,结果见表 2。

表 2 三七总皂苷中有效成分测定结果

Table 2 Determination of active components in total saponins of *P. notoginseng*

批号	三七皂苷 R_1 /%	人参皂苷 R_{g1} /%	人参皂苷 R_{b1} /%
HB20040807	7.97	31.82	28.25
HB20040806	7.93	31.90	28.42
HB20040609	7.39	29.75	26.26
HB20040904	7.63	30.62	27.43
HB20040905	7.70	30.98	27.60

3 讨论

3.1 目前多用薄层色谱法、比色法、高效液相色谱法检测皂苷类成分,但薄层扫描法影响因素多,结果误差大且费时较长;比色法多用于总皂苷的测定,但重现性较差;高效液相色谱法使用的检测器有紫外和蒸发光检测器,而后者还未能普及,紫外检测虽皂苷类成分为末端吸收但只要选好色谱条件仍能得到较好的分离。

3.2 本实验曾用甲醇和 30%、40%、50%、60%、100%乙腈水溶液为溶剂溶解对照品和三七总皂苷原料,结果以甲醇溶解溶剂峰干扰较大,40%以上乙腈水液溶解色谱图也出现较大干扰峰(100%乙腈中不能全溶),20%乙腈色谱峰峰强最大且体积分数越低样品溶解的越好,因此,最终选择以 20%乙腈水溶液为溶剂。

3.3 梯度洗脱与等度条件相比要快速、简便。而由于梯度条件造成的基线漂移较大,通过调整色谱条件,可得到满意效果。

References:

- [1] Wang M, Fang Y G, Gao W F. Quantitative determination of notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g1} , R_{b1} content in total notoginsenoside of *Panax notoginseng* and Xuesaitong Injection by HPLC gradient elution method [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20 (6): 410-413.
- [2] Shen G F, Wu Y J, Cheng L Y. Quantitative determination of Xueshuanlong Injection by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38 (9): 698-699.
- [3] Yang N L, Wu Y J, Cheng Y Y. Simultaneous determination of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} , R_{b1} , and R_d in *Panax notoginseng* herb using reversed phase high performance liquid chromatographic method [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2003, 31 (6): 713-734.

HPLC 法测定复方姜黄降脂片中姜黄素

于得才, 柯媛媛, 李红英, 孔令辉

(包头中药有限责任公司, 内蒙古 包头 014040)

复方姜黄降脂片是由姜黄提取物和牡丹皮提取物组成的复方 5 类新药,具有行气活血、化瘀通脉之功效,用于气滞血瘀之高脂血症。姜黄提取物系用超临界 CO_2 流体萃取技术提取而得,是一类姜黄酚性色素类成分,其中除主要含有姜黄素外,尚含有去甲

氧基姜黄素(demethoxycurcumin)和二去甲氧姜黄素(bisdemethoxycurcumin)。姜黄素具有较好的调血脂、抗氧化、抑制血小板凝聚和增强纤溶活性^[1]。姜黄提取物在方中为君药,因此,本实验建立了 HPLC 法测定姜黄素^[2,3]。该法准确,分离效果好,回

收稿日期:2005-04-20

作者简介:于得才(1973—),男,内蒙古赤峰人,工程师,研发中心主任,1999年毕业于内蒙古医学院,主要从事药物制剂及质量标准方面的研究。Tel: (0472) 4616327 Fax: (0472) 4614397 E-mail: yudecai3000@263.net