

HPLC 测定明目颗粒中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 的含量

杨梦玉¹, 王健², 孙毅坤^{2*}

(1. 北京市药监局药品认证管理中心, 北京 100053; 2. 北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立明目颗粒中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 的含量测定方法。方法: 采用 HPLC, Dikma Diamonsil(钻石) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-水(B)进行梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL。结果: 三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 的线性范围分别为 0.352 ~ 2.112 μg (r = 0.999 3), 0.914 ~ 5.484 μg (r = 0.999 2), 0.910 ~ 5.460 μg (r = 0.999 1); 平均加样回收率分别为 99.4%, 102.72%, 101.89%, RSD 分别为 2.56%, 2.16%, 2.16%。结论: 本试验建立的测定方法简便、重复性好、精密度高, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 明目颗粒; 高效液相色谱法; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Rb₁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0083-03

Content Determination of Notoginsenoside R₁, Ginsenoside Rg₁ and Ginsenoside Rb₁ in Mingmu Granule by HPLC

YANG Meng-yu¹, WANG Jian², SUN Yi-kun^{2*}

(1. Center for Certification of Drug, Beijing Drug Administration, Beijing 100053, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁ in Mingmu granule. **Method:** HPLC was used, Dikma Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile and water with gradient elution, flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and detection wavelength was at 203 nm, column temperature was 25 °C, injection volume 10 μL. **Result:** Linear ranges of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Rb₁ were 0.352-2.112 (r = 0.999 3), 0.914-5.484 (r = 0.999 2), 0.910-5.460 μg (r = 0.999 1), respectively. Their average recoveries were 99.4% (RSD 2.56%), 102.72% (RSD 2.16%) and 101.89% (RSD 2.16%), respectively. **Conclusion:** This established determination method was simple, accurate and reproducible, thus it could be used as quality control of Mingmu granule.

[Key words] Mingmu granule; HPLC; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁

明目颗粒为科研方, 以三七、枸杞子为君药, 配以其他药材加工制成, 具有明目作用。三七具有散瘀止血、消肿定痛的功能, 在方中起到重要治疗作

用, 其主要成分为三七皂苷 R₁, 人参皂苷 Rg₁ 及人参皂苷 Rb₁^[1-5], 可选为定量指标。本试验采用 HPLC 对明目颗粒中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷

[收稿日期] 20120615(012)

[第一作者] 杨梦玉, 学士, 副主任药师, 从事药物分析研究, Tel:010-83512890, E-mail:ymy662@sohu.com

[通讯作者] * 孙毅坤, 博士, 教授, 从事药物分析研究, Tel:010-84738619, E-mail:sunyik@163.com

Rb₁ 的含量进行测定,结果表明该测定方法简便、准确、重复性好,可用于该制剂的质量控制。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent),BSA-BT25S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),三七皂苷 R₁,人参皂苷 Rg₁,人参皂苷 Rb₁ 对照品(均购于中国药品生物制品检定所,批号分别为 110745-200617,110703-200323,110704-201122),明目颗粒(北京中医药大学中药学院制剂中心,批号 110714,110724,110725),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Dikma Diamonsil(钻石)C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 25 min,20% A ~ 40% A),检测波长 203 nm,柱温 25 °C,进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备 取三七皂苷 R₁,人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁ 的对照品适量,精密称定,加甲醇溶解制成每 1 mL 含三七皂苷 R₁ 0.20 mg、人参皂苷 Rg₁ 0.45 mg、和人参皂苷 Rb₁ 0.45 mg 的混合溶液,即得。

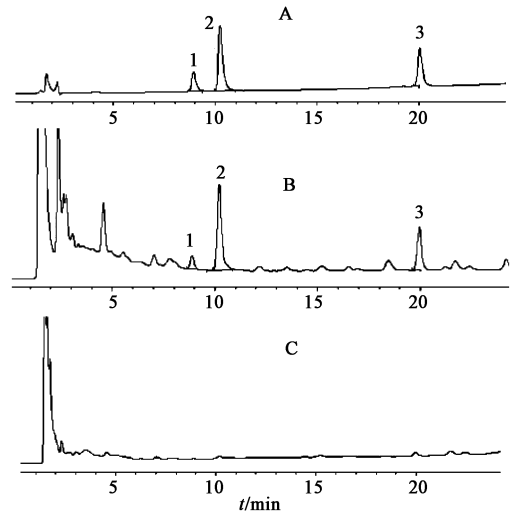
2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 50 HZ)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 15 mL,过中性氧化铝柱(直径 1 cm,100 ~ 200 目,5 g),用 70% 乙醇 50 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性对照溶液 按处方及制备工艺制备不含三七药材的阴性样品,按 2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

在上述色谱条件下,对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液的色谱图见图 1。结果三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁ 三成分色谱峰与相邻色谱峰之间的分离度均 > 1.5,且阴性对照无干扰,表明该方法专属性好。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系的考察 取上述对照品溶液(三七皂苷 R₁ 0.176 g·L⁻¹,人参皂苷 Rg₁ 0.457 g·L⁻¹,人参皂苷 Rb₁ 0.455 g·L⁻¹) 2.0,4.0,6.0,8.0,10.0,12.0 μL,按上述色谱条件进样分析,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为 $Y_{三七皂苷R_1} = 272.56X - 15.067 (r = 0.9993)$; $Y_{人参皂苷Rg_1} = 310.01X -$



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照溶液;
1. 三七皂苷 R₁;2. 人参皂苷 Rg₁;3. 人参皂苷 Rb₁
图 1 明目颗粒 HPLC

38.827 ($r = 0.9992$); $Y_{人参皂苷Rb_1} = 312.03X - 42.620$ ($r = 0.9991$)。三七皂苷 R₁ 在 0.352 ~ 2.112 μg,人参皂苷 Rg₁ 在 0.914 ~ 5.484 μg,人参皂苷 Rb₁ 在 0.910 ~ 5.460 μg 均呈良好线性关系。

2.5.2 精密度试验 取同一对照品溶液,重复进样 6 次,测定峰面积,结果三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ RSD 分别为 0.53%,0.88%,1.03%,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 取同一批号(110714)明目颗粒,共 6 份,按 2.3 项下方法制备,进样,测定峰面积,三七皂苷 R₁ 的平均含量为 1.310 mg·g⁻¹,RSD 2.52%;人参皂苷 Rg₁ 的平均含量为 8.371 mg·g⁻¹,RSD 2.12%;人参皂苷 Rb₁ 平均含量为 4.867 mg·g⁻¹,RSD 0.90%,表明方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于制备后 12 h 内每隔 2 h 进样 1 次,测定峰面积,结果三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 的 RSD 分别为 2.97%,1.12%,1.03%,表明样品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.5.5 加样回收率试验 取已知含量的样品 6 份,每份约为 1 g,精密称定,精密加入混合对照品溶液(三七皂苷 R₁ 0.403 g·L⁻¹、人参皂苷 Rg₁ 2.850 g·L⁻¹、人参皂苷 Rb₁ 1.634 g·L⁻¹) 3.0 mL,加甲醇 47 mL,按 2.3 项下方法制备,按上述色谱条件测定峰面积,计算回收率,结果见表 1 ~ 3。

2.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液 10 μL,按上述色谱条件,注入高效液相色谱

表1 三七皂苷 R₁ 加样回收率试验

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.004 7	1.316 5	1.208	2.498 1	97.82	99.04	2.56
1.004 5	1.316 2	1.208	2.488 3	97.03		
1.054 1	1.381 2	1.208	2.572 7	98.64		
1.001 8	1.312 7	1.208	2.517 7	99.75		
1.058 9	1.387 5	1.208	2.641 2	103.79		
0.982 4	1.287 2	1.208	2.461 4	97.20		

表2 人参皂苷 R_{g₁} 加样回收率试验

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.004 7	8.410 7	8.552 1	17.369 6	1.047 6	102.72	2.16
1.004 5	8.409 1	8.552 1	17.272 9	1.036 4		
1.054 1	8.824 3	8.552 1	17.700 8	1.037 9		
1.001 8	8.386 5	8.552 1	16.950 3	1.001 4		
1.058 9	8.864 5	8.552 1	17.785 7	1.043 2		
0.982 4	8.224 1	8.552 1	16.750 3	0.997 0		

表3 人参皂苷 R_{b₁} 加样回收率试验

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.004 7	4.890 1	5.552 4	10.633 8	1.034 5	101.89	2.16
1.004 5	4.889 1	5.552 4	10.645 6	1.036 8		
1.054 1	5.130 5	5.552 4	10.659 4	0.995 8		
1.001 8	4.876 0	5.552 4	10.593 2	1.029 7		
1.058 9	5.153 9	5.552 4	10.876 3	1.030 6		
0.982 4	4.781 5	5.552 4	10.257 8	0.986 3		

仪,测定,结果三七皂苷 R₁ 分别为 1.311,1.322,1.305 mg·g⁻¹;人参皂苷 R_{g₁},分别为 8.743,8.746,8.722 mg·g⁻¹;人参皂苷 R_{b₁} 分别为 5.020,5.004,4.949 mg·g⁻¹。

3 讨论

在测定明目颗粒中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 R_{b₁} 含量的过程中,曾经采用《中国药典》2010年版中色谱条件(乙腈-水梯度洗脱,0~12 min,19%乙腈,12~60 min,19%乙腈~36%乙腈)进行测定,结果3种成分的保留时间较长,同时三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁} 两峰处基线很不平稳;经进一步研究,采用本试验色谱条件时,各色谱峰分离度较好。本方为复方制剂,药味较多,成分复杂,经试验表明,该测定方法能同时测定3种成分,且重复性好、准确度高,可作为该制剂的质量控制方法。

[参考文献]

- [1] 丘明明. HPLC-ELSD法测定三七血伤宁胶囊中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁} 和 R_{b₁} 的含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(4):629.
- [2] 李欣,陈晓辉,齐丹丹. HPLC法同时测定舒胸片中三七皂苷 R₁ 和人参皂苷 R_{g₁} 的含量[J]. 药物分析杂志,2005,25(6):648.
- [3] 王建国,万慧杰,朱贺年. HPLC测定冠心丹参胶囊中人参皂苷 R_{b₁}、人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):98.
- [4] 毕晓黎,胥爱丽,李养学. 三七配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):54.
- [5] 魏宏伟,刘沛,刘翠哲. HPLC同时测定复方生脉颗粒中有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(20):95.

[责任编辑 全燕]