

三七活血丸三七皂苷类成分测定及稳定性分析

李明梅*

(盐城卫生职业技术学院药学系, 江苏 盐城 224005)

[摘要] 目的:建立三七活血丸中三七皂苷类成分的含量测定方法,并初步考察三七活血丸溶液的稳定性。方法:成分测定使用高效液相色谱法,以乙腈-0.05%磷酸(19:81)为流动相,于 203 nm 处检测三七皂苷 R₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{G1};再以乙腈-水(33:67)为流动相,于 203 nm 处检测人参皂苷 R_{B1}。结果:三七皂苷 R₁ 进样量在 0.24 ~ 3.6 μg 呈线性关系($r = 0.9997$);人参皂苷 R_{G1} 进样量在 1.2 ~ 18 μg($r = 0.9994$)呈线性关系;人参皂苷 Re 进样量在 0.08 ~ 1.2 μg($r = 0.9997$)呈线性关系;人参皂苷 R_{B1} 进样量在 0.25 ~ 3.72 μg($r = 0.9998$)呈线性关系。三七活血丸溶液于室温下放置 8 h 三七皂苷类成分的含量无明显变化。结论:本法简便,快速,准确,重复性好,可作为三七活血丸的质量控制标准;三七活血丸中三七皂苷类成分的稳定性良好。

[关键词] 三七活血丸;三七;成分分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0108-03

三七活血丸由三七、骨碎补、红花、五灵脂、续断、大黄、苏木、木香、蒲黄、没药、赤芍、地龙、当归等药物组成。具有通络散瘀的功效,适用于跌打损伤,骨折初期肿胀严重者。为了较全面评价三七活血丸

的质量,我们制定三七皂苷类成分的质量控制方法^[1]。

三七中有三七皂苷(Sanqi saponins, SS),如人参皂苷 R_{G1}, R_{B1}, Re 等成分。现有三七及其相关制剂大多仅对三七成分中的 1 ~ 2 个成分进行定量,《中国药典》仅采用 TLC 法测定人参皂苷 R_{G1} 和人参皂苷 R_{B1} 2 个成分。本研究采用 HPLC,选择人参皂苷 R_{B1}、人参皂苷 R_{G1}、人参皂苷 Re,以及三七独

[收稿日期] 2011-03-12

[通讯作者] *李明梅,本科,副教授,从事化学研究, Tel: 15950206998, E-mail: lmmych@163.com

表 2 3 批样品中延胡索乙素测定 mg·g⁻¹

批号	延胡索乙素		平均值
100303	0.006 73	0.006 52	0.006 62
100304	0.007 32	0.007 17	0.007 24
100305	0.007 15	0.007 04	0.007 10

滤膜滤过后仍混浊。改用乙醚萃取的方法,溶液较澄清。由于样品含乙基纤维素、丙酮、氮酮等赋形剂,所以样品在 1% 的盐酸超声提取后过滤较困难,采用少许棉花过滤,再从得到的续滤液中精密量取一定量的续滤液,用乙醚进行萃取,蒸干,最后用甲醇定容,微孔滤膜滤过,溶液澄清,并且测定的含量较准确。故确定用 1% 的盐酸超声提取,用少许棉花过滤,精密量取一定量的续滤液,用浓氨试液调节 pH,乙醚进行萃取,蒸干,甲醇定容。

3.2 流动相的选择 取同一批号样品按供试品溶液的制备的方法用 2 种不同的流动相测定,结果用甲醇-0.02%磷酸二氢钾和 0.96%磷酸氢二钾(用磷酸调 pH 至 6.5)(55:45)^[2]测得 0.006 30 mg·

g⁻¹;用乙腈-0.1%磷酸溶液(用三乙胺调 pH 至 6.0)(35:65)^[3]测得 0.673 mg/100 g。经比较,确定用乙腈-0.1%磷酸溶液(用三乙胺调 pH 至 6.0)(38:62)作为流动相。

[参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局标准国家药品标准 WS3-540(Z-079)-2003(Z)-2007[S].
- [2] 中国药典.一部[S].2005:94.
- [3] 中国药典.一部[S].2010:525.
- [4] 杨书良,田凤,孙婷. HPLC 测定延胡索止痛滴丸中延胡索乙素的含量[J]. 中草药,2006,37(12):1810.
- [5] 李惠芬,刘芳,朱丽丽. RP-HPLC 法测定延胡索及其制剂元胡止痛片中延胡索乙素的含量[J]. 中草药,2006,37(12):1811.
- [6] 潘云雪,诸葛陇,张芳芳. RP-HPLC 测定骨健口服液中延胡索乙素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,26(5):.

[责任编辑 蔡仲德]

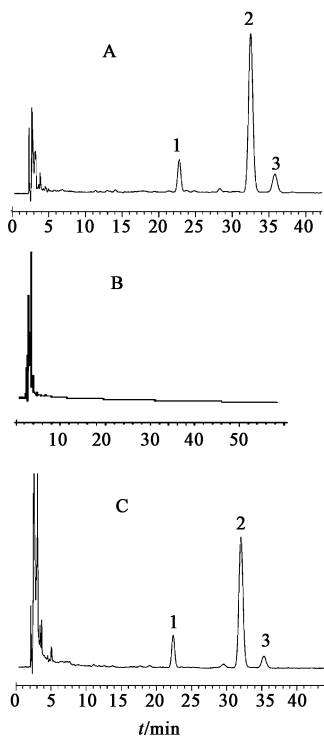
有成分三七皂苷 R_1 作为指标,建立了三七活血丸中三七皂苷类成分的含量测定方法^[2]。

1 材料

HP1100 高效液相色谱仪, G1311A-四元泵, G1322A-脱气机, G1316A-柱温箱, 1314A-UV 可变波长检测器, HPrev. A. 0501 化学工作站; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 磷酸为分析纯, 三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 和人参皂苷 R_{b_1} 对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 批号 110745-200415, 110703-200425, 0704—20012, 110704-200420)。三七活血丸(北京中大天意药业科技有限公司吉林瀚海制药厂生产, 国药准字 Z22025642, 批号 075200013)。

2 方法

2.1 色谱条件 Hypersil C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), Sep-Pak C_{18} 固相萃取小柱(60 μ m, 6cc/500 mg), 三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 R_e 以乙腈-0.05% 磷酸(19:81)为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 203 nm, 见图 1; 人参皂苷 R_{b_1} 以乙腈-水(33:67)为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 203 nm, 见图 2。



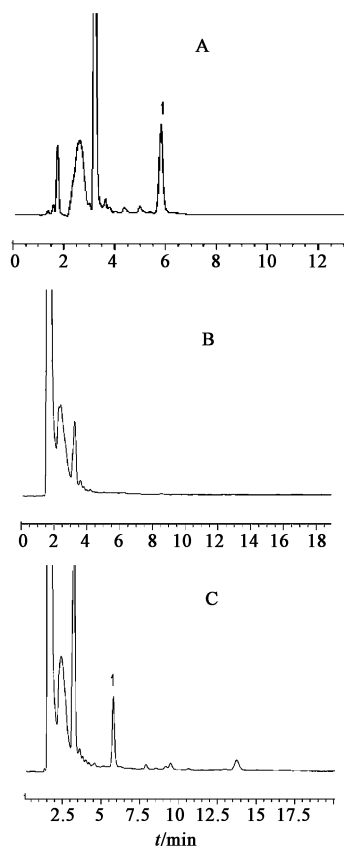
1. 三七皂苷 R_1 ; 2. 人参皂苷 R_{g_1} ; 3. 人参皂苷- R_e ;

A. 对照品; B. 阴性样品; C. 供试样品

图 1 三七活血丸中三七皂苷 R_1 测定

2.2 标准曲线的绘制

2.2.1 标准液配制 精密称取三七皂苷 R_1 、人参



1. 人参皂苷- R_{b_1} ;

A. 人参皂苷 R_{b_1} ; B. 阴性样品; C. 供试样品

图 2 三七活血丸中人参皂苷 R_{b_1} 测定

皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 和人参皂苷 R_e 等适量, 用甲醇分别制成 0.36, 0.12, 1.8, 0.372 g·L⁻¹ 的系列浓度对照品溶液。

2.2.2 线性关系 以峰面积(Y)为纵坐标, 进样量(X)为横坐标作图, 得三七皂苷 R_1 的回归方程是 $Y = 92.054X + 1.620$, 线性范围是 0.24 ~ 3.6 μ g, ($r = 0.9997$); 人参皂苷 R_e 的回归方程是 $Y = 236.882X - 1.950$, 线性范围是 0.08 ~ 1.2 μ g, ($r = 0.9997$); 人参皂苷 R_{g_1} 的回归方程是 $Y = 122.640X + 16.884$, 线性范围是 1.2 ~ 18 μ g, ($r = 0.9994$); 人参皂苷 R_{b_1} 的回归方程是 $Y = 221.836X - 2.056$, 线性范围是 0.248 ~ 3.72 μ g, ($r = 0.9998$)。

2.3 精密度试验 取三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 对照品混合液, 重复进样 5 次, 测得三七皂苷 R_1 的 RSD 0.7%, 人参皂苷 R_{g_1} 的 RSD 0.9%, 人参皂苷 R_e 的 RSD 3.0%; 人参皂苷 R_{b_1} 重复进样 6 次, 测得人参皂苷 R_{b_1} 的 RSD 1.5%。

2.4 重复性试验 取样品按测定方法由始至终平行操作 5 份, 测得三七皂苷 R_1 的 RSD 1.8%, 人参

皂苷 R_{g_1} 的 RSD 1.8% , 人参皂苷 R_e 的 RSD 1.7% , 人参皂苷 R_{b_1} 的 RSD 2.1% 。

2.5 回收率试验 取样品加入已知量的三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b_1} , 按测定方法由始至终平行操作 6 份, 结果见表 1。

表 1 三七活血丸中各成分加样回收率

成分	回收率/%	RSD/%
三七皂苷 R_1	97.6	2.9
人参皂苷 R_g	99.9	2.8
人参皂苷 R_e	98.2	2.1
人参皂苷 R_{b_1}	100.3	3.0

2.6 稳定性试验 观测样品液在室温下放置 0, 2, 4, 6, 8 h 三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 的含量变化, 三七皂苷 R_1 的 RSD 1.3% , 人参皂苷 R_{g_1} 的 RSD 1.0% , 人参皂苷 R_e 的 RSD 2.3% , 人参皂苷 R_{b_1} 的 RSD 0.8% , 结果表明样品在 8 h 内含量稳定。

2.7 最小检测限 将三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} , R_e 、 R_{b_1} 分别配成浓度很低的溶液进样, 以 $S/N \geq 10$ 为定量限, $S/N \geq 3$ 为检测限, 测得三七皂苷 R_1 最低定量限为 0.20 μg , 最小检测限为 0.10 μg ; 人参皂苷 R_{g_1} 最低定量限为 0.36 μg , 最小检测限为 0.12 μg ; 人参皂苷 R_e 最低定量限为 60 ng , 最小检测限为 24 ng ; 人参皂苷 R_{b_1} 最低定量限为 0.21 μg , 最小检测限为 0.10 μg 。

3 讨论

3.1 样品预处理 样品处理过程中, 曾比较了水饱和正丁醇、乙酸乙酯及固相萃取小柱的萃取效果, 结果显示乙酸乙酯萃取效果差, 另外两项萃取效果好^[3-5]。由于水饱和正丁醇萃取过程较繁琐以及正丁醇挥发性差, 由于受热时间长导致样品在挥干过程中可能发生变化, 因此, 实验选择固相萃取小柱进行液固萃取处理样品。

3.2 流动相选择 曾对乙腈-水-0.5% 醋酸、乙腈-水、乙腈-甲醇-水、乙腈-0.05% 磷酸等四种流动相系统分别进行了筛选优化^[6-9] , 优化后以乙腈-0.05%

磷酸(19:81)作为流动相, 能使三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_e 达到基线分离, 且其他成分均对测定无干扰, 而以乙腈-水(33:67)作为流动相, 能使人参皂苷 R_{b_1} 不受其他成分的干扰。

3.3 实验结果 样品中皂苷成分含量样品含量测定结果显示: 三七活血丸中三七皂苷类成分以人参皂苷 R_{g_1} 含量为最高 6.82 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其次是人参皂苷 R_{b_1} 5.23 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、三七皂苷 R_1 3.35 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 再次为人参皂苷 R_e 2.74 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3.4 稳定性考察 三七皂苷类成分于室温下放置 8 h 后, 含量无明显变化, 表明三七活血丸中三七皂苷类成分的稳定性良好。

[参考文献]

- [1] 李花, 陈刚, 邓常清. 补阳还五汤及其有效组分和三七总皂苷含药血浆抗血小板衍生生长因子诱导的血管平滑肌细胞增殖的作用[J]. 中西医结合学报, 2009, 7(11): 1078.
- [2] 宋建平, 曾江, 崔秀明, 等. 三七根茎的化学成分研究(II)[J]. 云南大学学报, 2007, 29(3): 287.
- [3] 沈岚, 冯怡. 比色法测定三七花中总皂苷的含量[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1368.
- [4] 郑莹, 李绪文, 桂明玉, 等. 三七茎叶黄酮类成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(3): 176.
- [5] 万建波, 李绍平, 王一涛. 中药三七高效液相色谱特征研究[J]. 药学学报, 2006, 41(11): 1090.
- [6] 韩旻, 傅韶, 方晓玲. 三七皂苷中人参皂苷 R_{g_1} 与 R_{b_1} 口服吸收及其体内药代动力学的研究和比较[J]. 药学学报, 2007, 42(8): 849.
- [7] 朱晶晶, 王智民, 匡艳辉, 等. 一测多评法同步测定人参和三七药材中多种人参皂苷-的含量[J]. 药学学报, 2008, 43(12): 1211.
- [8] 周燕, 宋慧, 宁宗, 等. 三七总皂苷对海马 CA1 区长时程增强效应的影响[J]. 药学学报, 2007, 42(11): 1137.
- [9] 韩旻, 韩丽妹, 王青松, 等. 三七皂苷的口服吸收机制[J]. 药学学报, 2006, 41(6): 498.

[责任编辑 蔡仲德]