

# 高效液相色谱法同时测定醒脑化瘀胶囊中人参皂苷 $Rg_1$ 、 $Rb_1$ 和三七皂苷 $R_1$ 的含量

张小红<sup>1</sup>, 孙冬梅<sup>2\*</sup>

(1. 广东食品药品职业学院, 广州 510520; 2. 广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] 目的: 建立醒脑化瘀胶囊中人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  的质量分数测定方法。方法: 采用 HPLC 法同时测定醒脑化瘀胶囊中人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  的质量分数。Gemini  $C_{18}$  (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱; 乙腈、水为流动相, 梯度洗脱; 检测波长为 203 nm; 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  分别在 2.060 0 ~ 10.300 0  $\mu$ g、1.074 0 ~ 5.370 0  $\mu$ g 及 0.199 4 ~ 0.997 0  $\mu$ g 范围内呈现良好的线性关系; 回收率分别为 97.81%、97.74% 和 97.33%, RSD 分别为 1.14%、1.10% 和 1.14% ( $n=6$ )。结论: 该方法简便、准确, 重现性好, 可用于醒脑化瘀胶囊的质量控制。

[关键词] 醒脑化瘀胶囊; 人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$ ; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0081-03

醒脑化瘀胶囊由三七、石决明、钩藤、蒲黄、赤芍等多味中药组成, 具有熄风通脑、祛瘀开窍、活血化瘀的功效, 主要用于治疗脑梗死急性期所致的肢体偏瘫、口角歪斜、语言蹇涩等。为了更好地控制制剂的质量, 保证临床用药安全有效, 采用高效液相色谱法, 同时对方中三七所含人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  等化学成分进行含量测定, 探讨该方的质量控制方法, 为保证制剂的质量奠定基础。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, 四元梯度泵, G2170AA 数据处理系统。

**1.2 试药** 乙腈为色谱纯试剂(一级), 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯。人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 人参皂苷  $Rg_1$  批号 0703-200120, 含量测定用; 人参皂苷  $Rb_1$  批号 704-200115, 含量测定用; 三七皂苷  $R_1$  批号 0745-200008, 含量测定用)。

## 2 实验条件

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Gemini  $C_{18}$  (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m) 柱; 以乙腈为流动相 A, 以水为流动相 B, 按表 1 中的规定进行梯度洗脱; 检测波长为 203 nm; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

表 1 梯度洗脱流动相

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	20	80
20	40	60

[收稿日期] 2009-11-17

[通讯作者] \* 孙冬梅, Tel: (020) 83501292; E-mail: tcmgdp@163.com

## [参考文献]

- [1] 潘明新, 王小阳. 虎杖的化学成分及其药理作用[J]. 中药材, 2000, 23(1): 56.
- [2] 肖凯, 宣利江. 虎杖中药材的化学成分[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(1): 12.
- [3] 黄亮, 刘敏敏. HPLC 法测定不同地区虎杖的虎杖苷含量[J]. 中国药师, 2006, 9(5): 408.
- [4] 杨红美, 陈波, 曾建国, 等. HPLC 同时测定虎杖及其提取物中 4 种有效成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2006,

31(3): 202.

- [5] 齐辉, 张勉, 王峥涛. HPLC 同时测定虎杖中 4 种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 2003.
- [6] 马云桐, 万德光, 宋良科. 虎杖药材 HPLC 指纹图谱研究(230 nm)[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(12): 972.
- [7] 雷海民, 毕葳, 李强, 等. 虎杖药材指纹图谱研究(303 nm)[J]. 中草药, 2006, 37(7): 1084.
- [8] 郑晓柯, 魏悦, 冯卫生. 不同采收期连翘的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(3): 1.

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>、人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub> 适量, 加甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub> 0.5 mg、人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub> 1 mg、三七皂苷 R<sub>1</sub> 0.1 mg 的混合溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品内容物研细, 取约 2 g, 精密称定, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 称定重量, 超声(200 W, 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

**2.4 线性范围的考察** 精密吸取对照品溶液(人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub> 1.030 0 mg·mL<sup>-1</sup>、人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub> 0.537 0 mg·mL<sup>-1</sup>和三七皂苷 R<sub>1</sub> 0.099 7 mg·mL<sup>-1</sup>) 2, 4, 6, 8, 10 μL 进行色谱测定, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归, 得标准曲线。

人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>:  $Y = 3.81 \times 10^2 X - 1.26 \times 10$ ,  $r = 0.999\ 93$ 。

人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub>:  $Y = 2.38 \times 10^2 X - 5.18 \times 10$ ,  $r = 0.999\ 88$ 。

三七皂苷 R<sub>1</sub>:  $Y = 2.87 \times 10^2 X - 0.62$ ,  $r = 0.999\ 89$ 。

结果表明, 人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>、R<sub>b<sub>1</sub></sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub> 分别在 2.060 0 ~ 10.300 0 μg、1.074 0 ~ 5.370 0 μg 和 0.199 4 ~ 0.997 0 μg 范围内呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取上述对照品溶液 5 μL 重复进样 5 次, 测得峰面积积分值的 RSD 分别为 0.98%、1.47% 和 1.34%, 均 < 2%, 结果表明本法的精密度好。

**2.6 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液(批号 090612) 20 μL, 按上述色谱条件测定 5 次, 每次间隔 2 h, 测得峰面积积分值 RSD 分别为 1.09%、1.22% 和 1.48%, 结果表明 8 h 内基本稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批样品分别制备 5 份供试液, 测得峰面积并计算含量, RSD 分别为 1.15%、1.25% 和 1.08%, 结果表明本法的重复性较好。

**2.8 加样回收率试验** 分别取已知含量的样品(批号 090603) 各 6 份, 精密称定, 分别精密加入一定量的人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>、R<sub>b<sub>1</sub></sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品, 按供试品制备与测定方法测定, 结果见表 2, 3, 4。

**2.9 样品含量测定** 分别精密吸取对照品溶液 5 μL 与样品供试液各 20 μL, 按上述色谱条件测定, 结果见表 5, 色谱图见图 1 ~ 3。

表 2 人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub> 回收率测定

No.	样品 取样量 /g	样品中 人参皂苷 R <sub>g<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	加入人 参皂苷 R <sub>g<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	测出人 参皂苷 R <sub>g<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.999 7	3.078	3.044	6.054	97.77		
2	0.994 5	3.062	3.044	6.049	98.13		
3	1.000 9	3.082	3.044	6.084	98.62	97.81	1.14
4	0.992 5	3.056	3.044	6.078	99.28		
5	0.995 8	3.066	3.044	6.011	96.75		
6	0.998 3	3.074	3.044	6.006	96.32		

表 3 人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub> 回收率测定

No.	样品 取样量 /g	样品中 人参皂苷 R <sub>b<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	加入人 参皂苷 R <sub>b<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	测出人 参皂苷 R <sub>b<sub>1</sub></sub> 的 量/mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.998 8	6.837	6.813	13.535	98.31		
2	0.993 6	6.801	6.813	13.429	97.28		
3	1.000 1	6.846	6.813	13.553	98.44	97.74	1.10
4	0.991 7	6.788	6.813	13.341	96.18		
5	0.994 7	6.809	6.813	13.426	97.12		
6	0.997 5	6.828	6.813	13.582	99.13		

表 4 三七皂苷 R<sub>1</sub> 回收率测定

No.	样品 取样量 /g	样品中 三七皂苷 R <sub>1</sub> 的 量/mg	加入三 七皂苷 R <sub>1</sub> 的 量/mg	测出三 七皂苷 R <sub>1</sub> 的 量/mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.997 2	0.723	0.705	1.415	98.16		
2	0.991 7	0.719	0.705	1.408	97.84		
3	0.998 6	0.724	0.705	1.404	96.39	97.33	1.14
4	0.989 0	0.717	0.705	1.414	98.87		
5	0.993 1	0.720	0.705	1.401	96.53		
6	0.995 9	0.722	0.705	1.400	96.17		

表 5 样品含量测定 (n=2)

No.	人参 皂苷 R <sub>g<sub>1</sub></sub>	人参 皂苷 R <sub>b<sub>1</sub></sub>	三七 皂苷 R <sub>1</sub>	RSD /%
090603	3.079	6.845	0.725	1.21
090608	3.539	6.341	0.778	1.36
090614	3.411	6.782	0.764	1.19

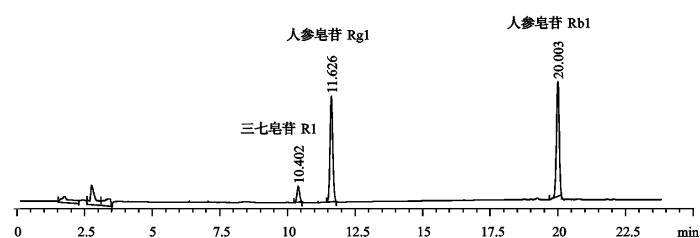


图 1 对照品溶液 HPLC 图

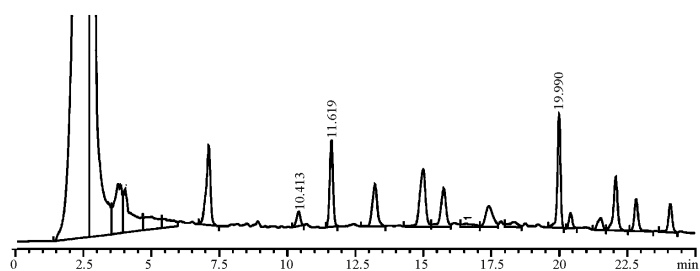


图 2 供试品溶液 HPLC 图

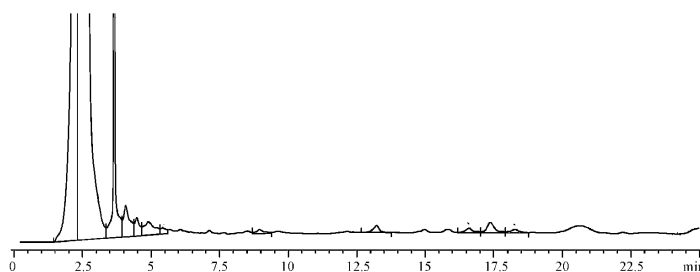


图 3 阴性对照 HPLC 图

### 3 小结

方中三七含有较高的皂苷类成分,这类成分具有明显的抗炎、增强免疫及延缓肾小球硬化发生的作用,为本方中主要的有效组分。因此,测定这类成

分不仅能够代表测定的特征性和专属性,也能够有效对成品进行质量控制。人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  是三七中的主要皂苷类成分,含量较高,在紫外 203 nm 下有较高的响应值和灵敏度,因此选定 3 种成分作为含量测定指标成分。

三七中皂苷类成分在 70% 乙醇中溶解度较大,且方中三七采用加 10 倍量 70% 乙醇回流提取工艺,因此采用正文所述方法对样品进行提取。采用高效液相色谱法进行测定条件的筛选和系统的方法学考察,确定了含量测定方法,同时测定制剂中人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$  和三七皂苷  $R_1$  的含量。结果表明此法合理可行,重复性好,可用于该制剂的质量控制。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 10.
- [2] 黎玉翠, 陈志维, 暴梅佳, 等. HPLC 法测定灵芝降糖胶囊中人参皂苷及三七皂苷  $R_1$  的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(7): 10.
- [3] 龙彦纲, 黄晓其, 林荣锋, 等. HPLC 法同时测定三芎止痛膏中三七皂苷  $R_1$  和人参皂苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(1): 56.
- [4] 黄晓其, 曾宝, 苏子仁. 高效液相梯度法测定红花牡丹膏中人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Rb_1$ 、 $Re$  及三七皂苷  $R_1$  的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(10): 1393.

## 本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿, 请登录本刊网站 [www. syfjxzz. com](http://www.syfjxzz.com) 注册会员, 登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后, 如录用, 请按通知要求交纳论文发表费。(见本刊稿约 7 投稿及缴费)