

HPLC 同时测定骨刺宁胶囊中人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 含量

刘恩荔¹, 张重远¹, 梁泰刚¹, 李青山^{1,2*}

(1. 山西医科大学药学院, 太原 030001; 2. 山西省中医药现代工程技术研究中心, 太原 030001)

[摘要] 目的: 建立骨刺宁胶囊中三七皂苷类成分人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 的含量测定方法。方法: 采用 C_{18} 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 以乙腈-0.05% 磷酸 (19.5:80.5) 为流动相, 采用 HPLC 测定人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 的含量, 检测波长 203 nm。结果: 人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 的线性范围分别为 3.192 ~ 30.4 μ g 和 1.1 ~ 10.48 μ g; 平均回收率分别为 94.4% 和 97.64%, RSD 分别为 0.61% 和 2.30% ($n=5$)。结论: 所用方法测定样品灵敏度高, 重复性好, 能有效地控制骨刺宁胶囊的质量。

[关键词] 骨刺宁胶囊; 三七皂苷 R_1 ; 人参皂苷 R_{g_1} ; 高效液相色谱法

[中图分类号] R **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0111-03

Determination of Notoginsenoside R_1 and Ginsenoside R_{g_1} in Gucining Capsule by HPLC

LIU En-li¹, ZHANG Zhong-yuan¹, LIANG Tai-gang¹, LI Qing-shan^{1,2*}

(1. School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

2. Shanxi Province Chinese Medicine Modern Engineering Technology Research Center, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective:** Notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g_1} in Gucining capsule were determined by HPLC. **Method:** ODS C_{18} column was used with acetonitrile-0.05% phosphoric acid (19.5:80.5) as mobile phase. Detection wavelength was set at 203 nm. **Result:** The linear range of ginsenoside R_{g_1} and notoginsenoside R_1 was 3.192 ~ 30.4 μ g, 1.1 ~ 10.48 μ g respectively. The average recovery was 94.4%, 97.64%, and RSD was 0.61%, 2.30% ($n=5$). **Conclusion:** The method can be used for the drug control.

[Key words] Gucining capsule; notoginsenoside R_1 ; ginsenoside R_{g_1} ; HPLC

骨刺宁胶囊原标准收载于新药转正标准第 33 册, 由三七、土鳖虫两味药组成, 具有活血化瘀、通络止痛功效, 是治疗颈椎病、腰椎骨质增生常用处方^[1]。三七为其君药, 自古以来就被公认为具有显著的活血化瘀、消肿止痛功效, 具有“金不换”、“南国神草”之美誉。现代研究表明, 其主要有效成分为人参皂苷, 总皂苷含量占三七化学成分 8% ~

12%, 以人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 为主。原标准采用薄层扫描法测定人参皂苷的含量, 该检测手段已逐渐被 HPLC 所取代。本文采用 HPLC 对人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 的含量进行测定, 对其质量标准进行了提高, 可进一步控制本品质量。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10A HPLC 系统: SPD-10A_{vp} 检测器, LC-10AT_{vp} 输液泵; 可见紫外分光光度计 (日本岛津 UV-2450 型)。

人参皂苷 R_{g_1} (批号 110703-200322)、三七皂苷 R_1 (批号 0745-200007) 购自中国药品生物制品检定所 (供含量测定用); 乙腈为色谱纯, 其余所用试剂均为分析纯。骨刺宁胶囊 (自制, 批号 20071205, 20080205, 20080206)。

[收稿日期] 20100114(004)

[第一作者] 刘恩荔, 讲师, 从事天然药物药效物质基础研究, Tel: (0351)4135243

[通讯作者] * 李青山, 教授, 研究方向: 药物化学, Tel: (0351) 4690322, (0351) 4690114, E-mail: qingshan@ yahoo.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱菲罗门 C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相为乙腈 - 0.05% 磷酸 (19.5 : 80.5); 检测波长 203 nm; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温室温。主峰保留时间适宜, 主峰与其他色谱峰分离度大于 1.5。理论塔板数按三七皂苷 R₁ 计不少于 4 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁ 对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 R_{g₁} 0.03 mg、三七皂苷 R₁ 0.08 mg 的溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的供试品适量, 研细, 精密称定 0.7 g, 置索氏提取器中,

加乙醚适量, 加热回流 1 h, 弃去乙醚液, 药渣挥去乙醚, 置索氏提取器中, 加甲醇适量, 加热提取 4 h 至甲醇无色, 取甲醇提取液, 挥干, 残渣加甲醇使溶解, 定量转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取骨刺宁胶囊方中除三七外的药材, 按胶囊剂制备方法及 2.2.2 项下方法制备三七阴性对照溶液。

2.3 样品测定 分别吸取上述对照品溶液、供试品溶液各 20 μL, 分别注入液相色谱仪, 测定。计算骨刺宁胶囊中人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁ 的含量。

2.4 专属性试验 分别精密称取人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁ 对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μL, 分别注入液相色谱仪见图 1。

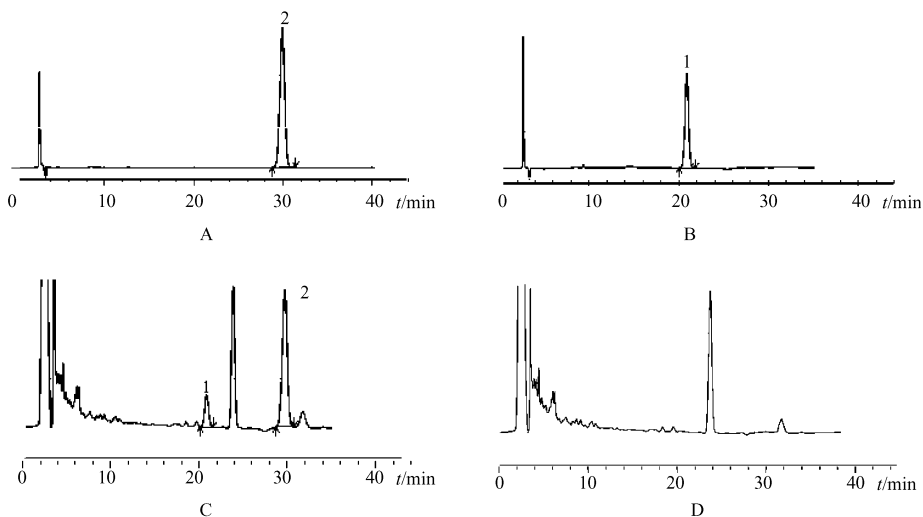


图 1 骨刺宁胶囊 HPLC 图

A. 对照品人参皂苷 R_{g₁}; B. 对照品三七皂苷 R₁; C. 供试品; D. 阴性对照样品; 1. 三七皂苷 R₁; 2. 人参皂苷 R_{g₁}

2.5 线性关系试验 分别精密吸取不同浓度的人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁ 对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品溶液浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线图, 得人参皂苷 R_{g₁} 回归方程为 $Y = 4.39 \times 10^5 X - 3.46 \times 10^3$ ($r = 0.9999, n = 5$); 三七皂苷 R₁ 回归方程为 $Y = 3.77958 \times 10^5 X - 2.59 \times 10^3$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明, 人参皂苷 R_{g₁} 在 3.192 ~ 30.4 μg、三七皂苷 R₁ 在 1.1 ~ 10.48 μg 与其峰面积之间线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密量取对照品溶液各 20 μL, 连续进样 6 次, 记录色谱图及数据, 人参皂苷 R_{g₁} RSD 0.85%、三七皂苷 R₁ RSD 0.72%。结果表明,

仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 制备 5 份相同量的供试品溶液, 分别精密量取 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图及数据。结果人参皂苷 R_{g₁} 的 RSD 0.93%, 三七皂苷 R₁ 的 RSD 0.56%, 表明该法重复性良好。

2.8 溶液稳定性试验 同一批供试品在不同时间进样, 计算各次进样峰面积的 RSD 值, 人参皂苷 R_{g₁} 的 RSD 1.34%、三七皂苷 R₁ 的 RSD 0.78%。表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.9 回收率试验 采用加样回收方法, 精密称取已知含量的样品, 准确加入人参皂苷 R_{g₁}、三七皂苷 R₁ 对照品一定量, 按 2.2.2 方法测定。见表 1, 2。

表 1 人参皂苷 R_{g_1} 加样回收率

| No. | 取样量/g | 样品中含量/mg | 测定量/mg | 回收率/% | 平均值/% | RSD/% |
|-----|---------|----------|--------|--------|-------|-------|
| 1 | 0.353 1 | 2.255 | 4.479 | 99.38 | | |
| 2 | 0.354 8 | 2.265 | 2.238 | 4.459 | 98.02 | |
| 3 | 0.352 9 | 2.253 | 4.471 | 99.08 | 98.63 | 1.1 |
| 4 | 0.359 0 | 2.292 | 4.475 | 97.54 | | |
| 5 | 0.354 3 | 2.262 | 4.525 | 101.11 | | |
| 6 | 0.350 9 | 2.240 | 4.425 | 97.62 | | |

注:加入量均为 2.238 mg。

表 2 三七皂苷 R_1 回收率试验

| No. | 取样量/g | 样品中含量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均值/% | RSD/% |
|-----|---------|----------|--------|-------|-------|-------|
| 1 | 0.351 3 | 0.444 | 0.941 | 98.89 | | |
| 2 | 0.353 2 | 0.447 | 0.934 | 96.99 | | |
| 3 | 0.352 0 | 0.445 | 0.945 | 99.37 | 98.03 | 1.2 |
| 4 | 0.351 9 | 0.445 | 0.934 | 97.38 | | |
| 5 | 0.354 1 | 0.448 | 0.933 | 96.55 | | |
| 6 | 0.357 0 | 0.452 | 0.949 | 98.98 | | |

注:加入量均为 0.502 4 mg。

2.10 样品测定 取本品 3 批,按上述供试品溶液的制备方法配制供试液,进样测定,结果见表 3。

表 3 样品测定 $mg \cdot g^{-1}$

| 批号 | 人参皂苷 R_{g_1} | 三七皂苷 R_1 |
|----------|----------------|------------|
| 20071205 | 6.385 | 1.265 |
| 20080205 | 6.059 | 1.265 |
| 20080206 | 5.610 | 1.163 |

3 讨论

骨刺宁胶囊为由三七、土鳖虫两味中药制成的复方制剂,三七为其君药,原标准^[1]以薄层扫描法测定三七中以人参皂苷 R_{g_1} 的含量,鉴于薄层扫描法在药品的含测应用中不如液相色谱法方便;《中国药典》(2005 年版 一部)三七药材的含量测定方法由《中国药典》(2000 年版 一部)的薄层扫描法修订为液相色谱法,为提高本品质量控制水平,本文对液相色谱法测定骨刺宁胶囊的含量进行了研究。三七中所含的人参皂苷 R_{g_1} ,三七皂苷 R_1 为其活性成分的代表,参考有关文献^[2-4],经研究对比,建立了骨刺宁胶囊的含量测定法,经方法学验证,本法重现性好、阴性对照无干扰,操作简单,便于满足工业化生产的

需要,可有效控制本品的质量。

色谱条件的选择依据 本文先后考察了乙腈-水、乙腈-甲醇-水、乙腈-0.05% 磷酸(19.5:80.5),最后采用乙腈-0.05% 磷酸(19.5:80.5)作为流动相测定人参皂苷 R_{g_1} 、三七皂苷 R_1 的含量,检测波长为 203 nm,流速为 1 mL·min⁻¹。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准 WS3-230(Z-0349)-2001(Z)骨刺宁胶囊质量标准.
- [2] 潘桂香,高秀梅,张伯礼. HPLC 测定复方丹参片中三七皂苷类成分含量[J]. 中药新药与临床,2003,14(4):112.
- [3] 周迎春,赵怀清,梁宁,等. 高效液相色谱法同时测定三七总皂苷中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 、 R_e 和三七皂苷 R_1 的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(2):27.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部. 北京:化学工业出版社,2005:10.

[责任编辑 顾雪竹]