

三七药材指纹图谱研究

高增平, 陆蕴如, 王宝华
(北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

摘要:目的:应用HPLC法制定三七药材指纹图谱检测标准。方法:Novar-Pak C₁₈分析柱,乙腈-水梯度洗脱,流速1.0ml/min,检测波长210nm。结果和结论:建立了三七药材的指纹图谱检测标准,实验方法简便、准确、重复性好。

关键词:三七;HPLC;指纹图谱

中图分类号:R284.1 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(2003)01-0011-02

Studies on the Fingerprint of Radix Notoginseng

GAO Zeng-ping, LU Yun-ru, WANG Bao-hua

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029 China)

Abstract: Objective: To study the fingerprints of the radix notoginseng. Method: Novar-Pak C₁₈ column was used, with mixture liquid of acetonitrile and water as mobile phase in a gradient mode. The wavelength of measurement was 210nm. Result and Conclusion: The standard fingerprint of the radix notoginseng has been gotten. The method is simple and reliable.

Key words: Radix notoginseng; HPLC; Fingerprint

本文按国家药品监督管理局2000年8月关于“中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)的通知”,对10批三七药材进行了指纹图谱测定,建立了指纹图谱检测标准,实验方法的精密度、稳定性、重现性良好,操作简便可行。

1 仪器 试剂 样品

Waters 515 泵, Waters 2487 双波长紫外检测器, Millennium³² 色谱工作站; 乙腈(美国 Fisher 公司)为色谱纯, 甲醇(北京化工厂)为分析纯; 三七药材 *Parax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 由厂方提供(产地为云南文山, 采集季节为9~10月, 北京中医药大学中药学院阎玉凝教授鉴定); 人参皂苷 Rg₁ 对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 0703-9914)。

2 色谱条件

Novar-Pak C₁₈ 分析柱(150mm × 4.6mm, 4μm), 乙腈-水二元梯度洗脱(17%~100%的乙腈水溶液), 流速 1.0ml/min, 检测波长 210nm。

3 供试品溶液的制备

3.1 药材粉碎粒度考察 将药材分别粉碎成20目和40目, 均用75%乙醇超声提取30min, 按照2.2.4制备成供试液, 依法测定, 结果表明粉碎过40目筛

的供试液测得图谱峰数比20目的供试液多, 说明粉碎成20目时成分提取不够完全, 故选择粉碎过40目筛。

3.2 提取时间的考察 取过40目筛的三七粉2份, 分别超声提取30min和40min, 依2.2.4法制成供试液, 并测定指纹图谱, 结果图谱相同, 故选择超声提取30min即可。

3.3 净化柱洗脱量考查 取过40目筛的三七粉, 依法超声提取30min, 过滤于10ml刻度试管中, 精密吸取1.00ml上中性氧化铝柱, 用75%乙醇洗脱, 依次收集洗脱液30ml, 10ml, 10ml, 将收集的三份洗脱液分别减压回收至干, 用甲醇定容至5ml容量瓶中, 依法测定指纹图谱, 结果显示, 第2份和第3份洗脱液中剩余成分很少, 且与第1份洗脱液相比也无新的色谱峰出现, 故确定收集洗脱液40ml即可。

3.4 供试品溶液的制备 取三七粉末(过40目筛)0.5g, 精密称定, 置25ml三角瓶中, 加75%乙醇10ml超声提取30min, 过滤于10ml刻度试管中, 精密吸取1.00ml上中性氧化铝柱(层析用中性氧化铝100~200目, 1.00g)用75%乙醇洗脱40ml, 洗脱液减压回收至干, 残渣用甲醇定容至5ml容量瓶中, 摇匀, 过0.45μm滤膜, 即得供试品溶液。

4 参照物的选择和制备

人参皂苷 Rg_1 为指纹图谱中峰面积积分值较大、出峰时间较早、很稳定的一个峰,而且可以购买到对照品,故选择人参皂苷 Rg_1 作为参照物。取人参皂苷 Rg_1 对照品,用甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液作为对照品溶液。

5 指纹图谱的测定

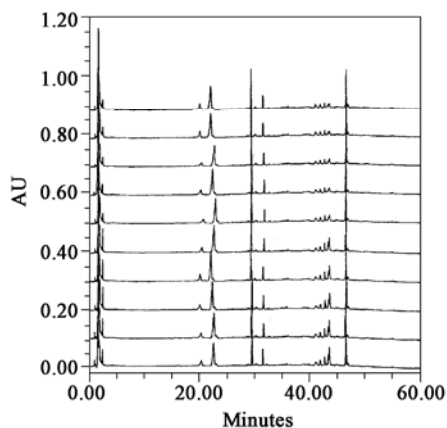
精密吸取供试品溶液 20 μ l,注入液相色谱仪,记录 60min 的色谱图。以人参皂苷 Rg_1 色谱峰(S 峰)的保留时间和峰面积积分为 1,计算相对保留时间和峰面积积分值的比值。

6 实验方法考察

6.1 精密度试验 取同一批三七药材,按 2.2.4 方法制备供试品溶液,连续进样 5 次,测定指纹图谱,结果各峰面积积分值比值的 *RSD* 在 1.71% ~ 2.62% 之间,相对保留时间差别在 0.006 ~ 0.26min 之间。

6.2 稳定性实验 取同一批三七药材,按 2.2.4 方法制备供试品溶液,分别在 0h, 6h, 12h, 16h, 20h 检测指纹图谱,结果各峰面积积分值比值的 *RSD* 在 1.90% ~ 2.49% 之间,相对保留时间差别在 0.006 ~ 0.26min 之间。

6.3 重现性实验 取同一批三七药材,按 2.2.4 方法制备供试品溶液,平行操作制备 5 份,分别检测指纹图谱,结果各峰面积积分值比值的 *RSD* 在 3.47% ~ 3.57% 之间,相对保留时间差别在 0.006 ~ 0.26min 之间。



附图 1 十批三七药材指纹图谱

7 实验结果

7.1 指纹图谱 测得十批三七药材的指纹图谱见附图 1,标定共有指纹峰 24 个,其中包括作为参照物的人参皂苷 Rg_1 色谱峰(S 峰)。

7.2 共有指纹峰的峰号及其相对保留时间

表 1 共有指纹峰的峰号及其相对保留时间

峰号	相对保留时间	峰号	相对保留时间	峰号	相对保留时间
1	0.058	2	0.074	3	0.082
4	0.095	5	0.109	6	0.904
S	1.000	7	1.018	8	1.274
9	1.284	10	1.305	11	1.340
12	1.401	13	1.442	14	1.575
15	1.593	16	1.820	17	1.856
18	1.892	19	1.919	20	1.928
21	2.061	22	2.076	23	2.436

7.3 峰面积积分值比值 按照指纹图谱技术要求,对单峰面积积分值占总峰面积积分值 5% 以上的色谱峰(1~ 5 号、10 号、21 号,S 峰为参照物 Rg_1 峰)计算了峰面积积分值比值,结果见表 2。

表 2 峰面积积分值比值及准许误差范围

峰号	峰面积%	峰面积比值(<i>n</i> = 10)	准许误差范围
1~ 5	> 20%	2.657	2.126~ 3.188
S	10~ 20%	1.000	
10	5~ 10%	0.547	0.383~ 0.711
21	10~ 20%	0.739	0.554~ 0.924

8 讨论

本文用梯度洗脱法使三七药材得到了较好的分离,方法考察实验结果证明该方法准确可靠,可用于三七指纹图谱测定。

经过对 10 批三七药材进行测定,制定了其指纹图谱检测标准及相应的技术参数(10 批平均值),非共有峰占总峰面积的百分比均小于 10%。