

HPLC-ELSD 测定心可舒胶囊中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 的含量

黄秋妹, 曹智启, 丁沐淦(广东岭南职业技术学院, 广州 510663)

摘要: 目的 建立心可舒胶囊中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 的含量测定方法。方法 以 COSMOSIL 5C₁₈-PAQ Packed Column(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱, 以乙腈-水(27:73)为流动相, 流速为 1 mL·min⁻¹, ELSD 为检测器, 漂移管温度: 41 °C; 雾化器(氮气)压力: 350 kPa。结果 三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 的线性范围分别为 0.123 2~6.16, 0.327 2~16.36 μg, *r* 值分别为 0.999 9, 0.999 7; 回收率分别为 98.7%, 99.2%, RSD 分别为 2.72%, 1.54%。结论 该方法简便, 准确, 灵敏度高, 重复性好, 可作为心可舒胶囊的含量测定方法。

关键词: 心可舒胶囊; 高效液相色谱法; 蒸发光散射检测器; 三七; 含量测定

中图分类号: R917.101; R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)08-0770-04

作者简介: 黄秋妹, 女, 硕士, 主管中药师

Tel: (020)22305984

E-mail: huang1596@163.com

Determination of Notoginsenoside R₁, Ginsenoside Rg₁ in Xinkeshu Capsule by HPLC-ELSD

HUANG Qiumei, CAO Zhiqi, DING Mugan(Guangdong Lingnan Institute of Technology, Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ in Xinkeshu capsule. **METHODS** The notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ in Xinkeshu capsule were separated on a COSMOSIL 5C₁₈-PAQ Packed column(250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-water(27 : 73) at the flow rate of 1 mL·min⁻¹. The analytes were detected using ELSD. The drift tube temperature was 41 °C, and gas press was 350 kPa. **RESULTS** The responses of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ were linear in the ranges of 0.123 2–6.16 μg and 0.327 2–16.36 μg, respectively. The average recoveries were 98.7% and 99.2% with RSD 2.72% and 1.54%, respectively. **CONCLUSION** The described method is simple and accurate. It can be used for the quality control of Xinkeshu capsule. **KEY WORDS:** Xinkeshu capsule; HPLC; ELSD; *Panax notoginseng*; content determination

心可舒胶囊^[1]由山楂、丹参、葛根、三七等组成,具有活血化瘀、行气止痛等作用,用于气滞血瘀型冠心病引起的胸闷、心绞痛、高血压等症。方中三七具有散瘀止血、消肿止痛之功效^[2]。目前心可舒制剂的含量测定指标主要为葛根素、丹参素钠、丹参酮II A等^[3-5];三七药材为方中贵重药材,方中三七有效成分三七皂苷 R₁和人参皂苷 Rg₁的含量测定方法未见报道。笔者采用高效液相色谱法(蒸发光散射检测器)对方中三七的有效成分三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁的含量测定方法进行研究。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

U-3000 高效液相色谱仪(美国戴安公司); Sedex 75 蒸发光散射检测器(法国Sedere公司)。

1.2 试药和试剂

三七皂苷R₁对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110736-200525,供含量测定用),人参皂苷Rg₁对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110703-200424,供含量测定用);心可舒胶囊(自制,批号:20103101,20100302,20100303);乙腈为色谱纯,其余均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 COSMOSIL 5C₁₈-PAQ Packed Column柱(250 mm×4.60 mm, 5 μm, 日本Nacalai Tesque公司);以乙腈-水(27 : 73)为流动相,流速 1 mL·min⁻¹;蒸发光散射检测器,雾化器(氮气)压力:305 kPa,漂移管温度:41 °C。理论板数按三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁峰计算,均不得低于3 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁对照品适

量,加甲醇制成每1 mL含三七皂苷R₁ 0.1 mg、人参皂苷Rg₁ 0.3 mg的混合溶液,即得。

2.3 供试品溶液、阴性对照溶液的制备

取本品细粉(过5号筛)约2.0 g,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇50 mL,称定重量,水浴加热回流1.5 h,取出,放冷,再称定重量,用水饱和正丁醇补足减失的重量,滤过,精密量取续滤液25 mL,蒸干,残渣用甲醇溶解并定量转移至10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得。

取缺三七的阴性对照样品细粉约1.8 g,同法制备阴性对照溶液。

2.4 专属性试验

按“2.1”项下色谱条件,将对照品溶液、样品溶液及三七阴性对照溶液进行测定,考察色谱分离情况。在本色谱条件下三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁均具有良好的分离度,三七阴性对照无干扰,基线噪音小,色谱图见图1。

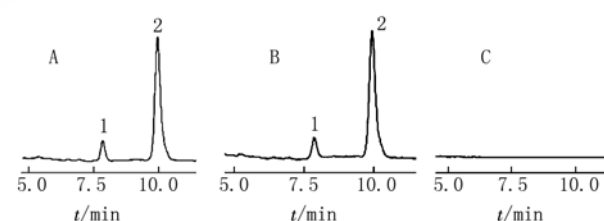


图1 高效液相色谱图

A-混合对照品; B-样品; C-三七阴性样品; 1-三七皂苷 R₁; 2-人参皂苷 Rg₁

Fig 1 HPLC-ELSD chromatograms

A-mixed reference substance; B-sample; C-negative sample without Radix Notoginseng; 1-notoginsenoside R₁; 2-ginsenoside Rg₁

2.5 线性关系考察

精密称取三七皂苷R₁对照品3.08 mg、人参皂苷Rg₁对照品8.18 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀作为溶液 I。精密吸取

该溶液1.0 mL, 置10 mL量瓶中, 加甲醇并稀释至刻度, 摇匀作为溶液II。分别精密吸取对照溶液II 4 μ L、对照溶液I 4, 8, 12, 16, 20 μ L, 进样测定, 三七皂苷R₁的进样量分别为0.123 2, 1.232, 2.464, 3.696, 4.928, 6.16 μ g, 人参皂苷Rg₁的进样量分别为0.327 2, 3.272, 6.544, 9.816, 13.088, 16.36 μ g, 按“2.1”项下色谱条件测定峰面积, 分别以三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁对照品进样量的常用对数为横坐标, 三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁色谱峰峰面积的常用对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表1。

表1 三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁的回归方程和线性范围
Tab 1 Standard curves equation and relevant data of notoginsenoside R₁ and ginsenoside Rg₁

检测指标	回归方程	r	线性范围/ μ g
三七皂苷 R ₁	$Y=1.542\ 5X+5.112\ 9$	0.999 9	0.123 2~6.16
人参皂苷 Rg ₁	$Y=1.532\ 4X+5.057\ 4$	0.999 7	0.327 2~16.36

2.6 仪器精密度试验

精密吸取三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁混合对照品溶液10 μ L, 连续进样5次, 三七皂苷R₁的峰面积的对数平均值为5.302, RSD为0.38%; 人参皂苷Rg₁的峰面积的对数平均值为5.861, RSD为0.19%, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批号(批号: 20100301)样品5份, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备、测定, 以外标两点法对数方程计算, 即得。三七皂苷R₁含量的RSD为1.19%, 人参皂苷Rg₁含量的RSD为2.01%, 表明该法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取供试品溶液在0, 4, 8, 16, 24 h, 分别进样, 测得峰面积, 并以外标两点法对数方程计算, 三七皂苷R₁的含量RSD为2.07%, 人参皂苷Rg₁的含量RSD为1.53%。可见供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.9 加样回收率试验

取已知含量的本品内容物(批号: 20100301)约1.0 g, 精密称定, 分别加入对照品溶液50 mL(以正丁醇为溶剂; 相当于三七皂苷R₁ 0.012 4 mg·mL⁻¹、人参皂苷Rg₁ 0.048 7 mg·mL⁻¹), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 并进样测定, 以外标两点法对数方程计算三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁的含量, 并计算回收率, 结果见表2和表3。

表2 三七皂苷R₁回收率测定结果(n=6)

Tab 2 The results of recovery for notoginsenoside R₁(n=6)

样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.658 9	0.620 0	1.290 7	101.9	98.7	2.72
0.666 4	0.620 0	1.270 5	97.4		
0.641 0	0.620 0	1.241 5	96.9		
0.652 7	0.620 0	1.256 3	97.4		
0.662 3	0.620 0	1.260 4	96.5		
0.665 5	0.620 0	1.300 7	102.5		

表3 人参皂苷Rg₁回收率测定结果(n=6)

Tab 3 The results of recovery for ginsenoside Rg₁(n=6)

样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1.749 7	2.435	4.106 5	96.8	99.2	1.54
1.769 6	2.435	4.215 7	100.5		
1.702 0	2.435	4.120 3	99.3		
1.733 3	2.435	4.184 4	100.7		
1.758 7	2.435	4.143 9	98.0		
1.767 0	2.435	4.201 1	100.0		

2.10 样品的含量测定

取3批本品内容物按“2.3”项下方法制备, 并按“2.1”项下色谱条件测定, 以外标两点法对数方程计算三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁的含量, 结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=3)

Tab 4 Determination of the content in sample (n=3)

批号	三七皂苷 R ₁ 含量/ mg·粒 ⁻¹	人参皂苷 Rg ₁ 含量/ mg·粒 ⁻¹
20100301	0.235	0.624
20100302	0.251	0.758
20100303	0.246	0.723

3 讨论

3.1 检测器的选择

三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁的紫外吸收特征为末端吸收, 由于大部分有机化合物在紫外末端均有吸收, 采用紫外检测器测定干扰较大。蒸发光散射检测器是一种通用型质量检测器, 能检测任何挥发性低于流动相的化合物, 特别是无特征紫外吸收或紫外末端吸收的物质, 故选择了高效液相色谱法-蒸发光散射检测器进行三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁的含量测定。

3.2 流动相的选择

参考文献[6-7]中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁的含量测定方法, 选用乙腈-水不同比例进行研究, 结果以乙腈-水(27:73)为流动相时, 样品中的三

七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 的色谱峰能完全分离,阴性无干扰,且色谱峰的保留时间较为合适。

3.3 提取方法的选择

对以下 3 种提取方法进行比较,①取本品,加入水饱和正丁醇,超声处理 30 min,取续滤液,加氨试液洗涤,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇使溶解,并定容;②取本品加水饱和正丁醇,回流 1.5 h,滤过,取续滤液,蒸干,用甲醇溶解并定容;③取本品细粉,加甲醇,回流 1.5 h,滤过,即得。结果方法②提取的样品三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 含量最高。

3.4 提取时间的考察

对“3.3”项下提取方法②中提取时间进行考察,结果回流 1 h 提取率较低,回流 1.5 h 与 2 h 提取率基本一致,所以选择提取时间为 1.5 h。取三七药材 0.6 g,按上述确定的含量测定方法进行测定,结果三七药材中的三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 含量与按中国药典方法测定的含量基本一致,说明此方法可行。

本试验采用 HPLC-ELSD 测定心可舒胶囊中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 的含量,方法线性、精密度、溶液稳定性、重复性、回收率均良好,可作为心可舒胶囊的质量控制方法。

REFERENCES

- [1] WS3-B-2856-98. Drug Standards of Ministry of Public Health (the fifteenth)(卫生部药品标准.第十五册) [S]. 1998: 41.
- [2] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版.一部) [S]. 2005: 10-11.
- [3] LI X F. Puerarin content in Xinkeshu tablets measured by RP-HPLC [J]. J Zhejiang Univ Tradit Chin Med(浙江中医药大学学报), 2008, 32(4): 534-535.
- [4] WEI H Z, HUANG Z H, CUI J G, et al. Determination of salvianolic acid B in Xinkeshu capsule and Xinkeshu tablets by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 38(8): 1196-1197.
- [5] LIU B, XU Y B, WANG R H. Simultaneous determination of puerarin and tanshinone II A in Xinkeshu capsule by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(5): 669-671.
- [6] FENG X D, GAO G W, HUANG H X. Determination the contents of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} and ginsenoside R_{b1} in Xinnao Guantong Dripping pills by HPLC-ELSD [J]. China Pharm(中国药师), 2008, 11(8): 891-893.
- [7] FENG X D, HUANG H X, GAO G W. Determination of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} and R_{b1} in Xinning tablet by HPLC-ELSD [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2007, 29(12): 1786-1789.
- [8] LI X, CHEN X H, QI D D, et al. Simultaneous determination of notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g1} contents in Shuxiong tablets by HPLC [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2005, 25(6): 648-650.

收稿日期: 2010-10-28