

HPLC 测定红药片中三七皂苷 R1 和人参皂苷 Rg1 的含量

卢敏,陈保汉(浙江永宁药业股份有限公司,浙江 台州 318020)

摘要:目的 建立红药片中三七皂苷 R1 和人参皂苷 Rg1 的 HPLC 测定方法。方法 采用 Agilent 1100 DAD 高效液相色谱仪, Discovery C₁₈ 色谱柱(25 cm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.1% 磷酸(20:80) 为流动相, 检测波长为 203 nm, 流速 1 mL·min⁻¹。结果 三七皂苷 R1 在 1.216~9.728 μg(r=0.999 5), 人参皂苷 Rg1 在 3.036~15.180 μg(r=0.999 1) 内线性关系良好。三七皂苷 R1 平均回收率为 98.6%, RSD=1.7%; 人参皂苷 Rg1 平均回收率为 101.0%, RSD=1.7%。结论 该法简便、快速、准确, 适用于红药片中三七皂苷 R1 和人参皂苷 Rg1 的含量定量测定, 有利于控制红药片质量。

关键词:红药片; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2009)03-0215-03

Determination of Notoginsenoside R1 and Ginsenoside Rg1 in Hongyao Tablet by HPLC

LU Min, CHEN Baohan (Zhejiang Yongning Pharmaceutical Co., Ltd, Taizhou 318020, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for simultaneous determination of Notoginsenoside R1 and Ginsenoside Rg1 in Hongyao Tablets. **METHODS** The HPLC was conducted on Discovery C₁₈ column(25 cm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (20:80) as the mobile phase. The detection wavelength was 203 nm, and flow rate was 1 mL·min⁻¹. **RESULTS** There were good linear relations of Notoginsenoside R1 within 1.216~9.728 μg·mL⁻¹ (r=0.999 5) and Ginsenoside Rg1 within 3.036~15.180 μg·mL⁻¹ (r=0.999 1). The average recovery rate of Notoginsenoside R1 was 98.6%, RSD=1.7%; and Ginsenoside Rg1 was 101.0%, RSD=1.7%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate for the determination of Notoginsenoside R1 and Ginsenoside Rg1 in Hongyao Tablets, and it is expected for the quality control of Hongyao tablets.

KEY WORDS: Hongyao tablets; HPLC

红药片由三七、白芷、当归等组成,具活血止痛、祛瘀生新作用,用于跌打损伤、瘀血肿痛、风湿麻木

等证。三七为方中君药。其中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 为三七的有效成份,为有效控制红药片的质量

作者简介:卢敏,女,高级工程师 Tel: (0576)84237289 E-mail: ynlumin@163.com

量,本文建立了同时测定该制剂中三七皂苷 R1 及人参皂苷 Rg1 含量的 HPLC 法。

1 仪器与试药

Agilent 1100 DAD 液相色谱仪,岛津 UV-260 紫外分光光度计。

三七皂苷 R1 (批号 0745-200707,供含量测定用)、人参皂苷 Rg1 (批号 0703-200705,供含量测定用)均由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯,其余为分析纯。样品为实验室自制(批号:070901、070902、070903、070904、070905、070906、070907、070908、070909、070910)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Discovery C₁₈ 色谱柱(25 cm×4.6 mm,5 μm);以乙腈-0.1% 磷酸(20:80)为流动相;检测波长为 203 nm;流速为 1 mL·min⁻¹。在此条件下能得到较好分离,见图 1。

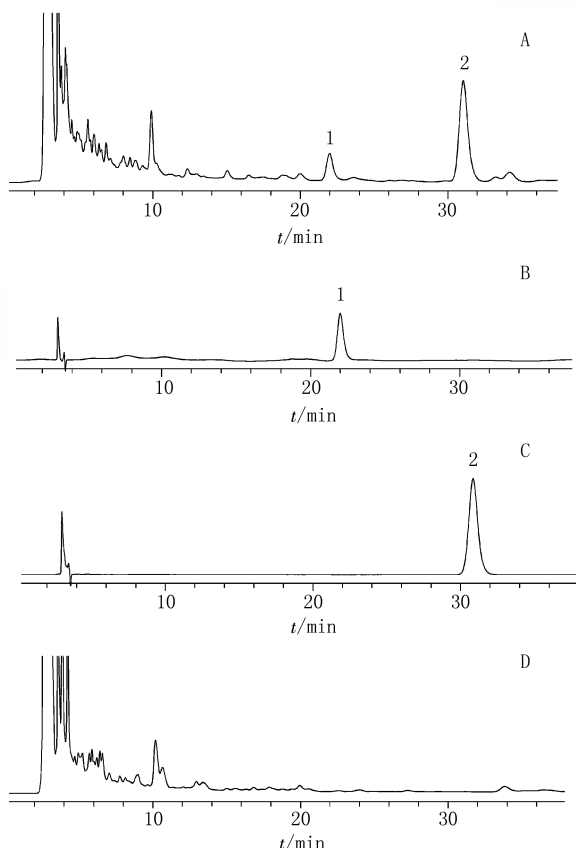


图 1 图红药片、三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、缺三七阴性样品的 HPLC 图

A-红药片;B-三七皂苷 R1;C-人参皂苷 Rg1;D-缺三七阴性

Fig 1 The HPLC chart of Hongyao Tablets, Notoginsenoside R1, Ginsenoside Rg1 and negative of Panax notoginseng sample
A-Hongyao Tablets;B-Notoginsenoside R1;C-Ginsenoside Rg1;D-negative of Panax notoginseng

2.2 对照品溶液及供试品溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24 h 的三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 对照品各适量,加甲醇制成每 1 mL 中各含 0.15、0.6 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的内容物约 0.95 g,置烧瓶中,精密称定,精密加入甲醇 10 mL,称定重量,回流提取 2 h,放冷,补足减失重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2.3 测定方法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.3 线性关系考察

精密量取三七皂苷 R1(0.608 mg·mL⁻¹)对照品溶液 2,4,8,12,16 μL 分别注入液相色谱仪,测定峰面积 Y,得回归方程:Y=312.55X+38.5, r=0.999 5,结果显示进样量在 1.216~9.728 μg 内有良好的线性关系。再精密量取人参皂苷 Rg1 对照品溶液(0.759 mg·mL⁻¹)4,8,12,16,20 μL 分别注入液相色谱仪,测定峰面积 Y,得回归方程:Y=308.5X+92.37, r=0.999 1,结果显示进样量在 3.036~15.180 μg 内有良好的线性关系。

2.4 仪器精密度试验

分别取对照品溶液,按上述色谱条件,重复进样 6 次,测定峰面积,结果人参皂苷 Rg1 的 RSD 为 0.2%(n=6),三七皂苷 R1 的 RSD 为 1.9%(n=6)。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液,按上述色谱条件,每隔一定时间进样 1 针,测定峰面积。三七皂苷 R1 和人参皂苷 Rg1 在 0,1,26,31.5,38.5 h 的峰面积分别为 474.3,477.1,472.7,465.4,465.3 和 2346.0,2319.9,2406.1,2446.2,2439.9, RSD 分别为 1.1%和 2.3%。结果显示样品至少在 38 h 内稳定。

2.6 干扰试验

取缺三七的阴性样品按“2.2”项下供试品溶液制备法制备,并取相当于供试品的量注入液相色谱仪,结果显示在三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 相同保留时间处无吸收峰,见图 1。

2.7 重复性试验

取同一批号样品(070906)6 份,分别精密称定,按上述色谱条件,测定峰面积并计算含量,结果三七皂苷 R1 平均含量为 1.814 mg·g⁻¹, RSD 为 2.1%;人参皂苷 Rg1 平均含量为 6.455 mg·g⁻¹, RSD 为 2.6%(n=6)。

2.8 回收率试验

精密称定已知含量样品(批号 070906,含三七皂苷 R1 为 $1.814 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,含人参皂苷 Rg1 为 $6.455 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)5 份,精密加入三七皂苷 R1 人参皂苷 Rg1 的混合对照品适量,按上述方法处理后测定峰面积并计算含量,结果显示三七皂苷 R1 平均回收率为 98.6%, $\text{RSD} = 1.7\%$;人参皂苷 Rg1 为 101.0%, $\text{RSD} = 1.7\%$,见表 1、表 2。

表 1 三七皂苷 R1 回收率试验结果

Tab 1 Returns-ratio test results of Notoginsenoside R1

编号	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.868 7	0.703 0	1.552 4	97.3	98.6	1.7
2	0.846 7	0.703 0	1.553 4	100.6		
3	0.840 4	0.703 0	1.538 2	99.3		
4	0.854 4	0.703 0	1.551 8	99.2		
5	0.860 5	0.703 0	1.539 0	96.5		

表 2 人参皂苷 Rg1 回收率试验结果

Tab 2 Returns-ratio test results of Ginsenoside Rg1

编号	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	3.090 7	2.967 0	6.109 8	101.8	101.0	1.7
2	3.012 5	2.967 0	5.929 4	98.3		
3	2.990 0	2.967 0	5.998 7	101.2		
4	3.039 7	2.967 0	6.091 5	102.9		
5	3.061 6	2.967 0	6.047 9	100.7		

2.9 样品测定

按上述方法测定 10 批样品,每批 2 份,并计算每批平均含量,结果见表 3。

表 3 样品测定结果

Tab 3 Sample determination results

批号	三七皂苷 R1 /mg · 片 ⁻¹	人参皂苷 Rg1 /mg · 片 ⁻¹	总量
070901	0.903	3.224	4.127
070902	0.951	3.277	4.228
070903	0.894	3.261	4.155
070904	0.951	3.224	4.175
070905	0.933	3.180	4.113
070906	0.840	3.030	3.870
070907	0.966	3.193	4.159
070908	0.868	2.986	3.854
070909	0.933	3.173	4.106
070910	0.930	3.141	4.071

3 讨论

3.1 薄层扫描法测定人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 的含量,色谱图中三七皂苷 R1 与人参皂苷 Re 两斑点难以分离;文献报道有 UV 测定三七总皂苷的含量,但测定结果易受溶液颜色的影响及类似成分的干扰,也有较多报道 HPLC 测定三七中皂苷的含量^[14],但许多方法均不能有效分离三七皂苷 R1 与人参皂苷 Re,本文方法能分离两者并同时测定三七中含量较高的指标性成分三七皂苷 R1 人参皂苷 Rg1 的含量,为控制产品质量提供可靠依据。

3.2 本文含量测定前处理曾采用加甲醇直接超声处理 0.5,1,1.5 h,预浸 0.5 h 后超声 1 h,预浸 1 h 后超声 1 h,预浸 2 h 后超声 1.5 h,索氏提取 6 h,比较回流提取 1,2,3 h 对三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 含量的影响,结果显示:直接超声提取、预浸后超声提取和回流 1 h 及索氏提取三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 均含量略低,回流 2,3 h 提取的三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1 基本完全,故以本文方法省时简便,提取完全。

REFERENCES

- [1] CHENG J, MEI Q, HE J X, et al. Determination of notoginsenoside R1 and ginsenoside Rg1, Rb1 in Zidan Huoxue Tablet by HPLC gradient elution[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2008, 30(6): 864-868.
- [2] ZHAO Y M, LI S X, DENG X H, et al. Analysis of the active compounds of Panax notoginseng and Salviae miltiorrhizae in Danxinshu capsules[N]. Acad J Guangdong Coll Pharm(广东药学院学报), 2007, 23(6): 644-647.
- [3] ZHANG L B, WEI J R, WU M X. Determination of Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Rb3 and Notoginsenoside Fc in Essence of Tienchi Flowers[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2001, 21(5): 310-312.
- [4] ZHAO X J, LIU F Q. Determination of Ginsenoside R1 and Ginsenoside Rg1 in Fufang Biejia Ruangan Tablets by HPLC[J]. Li Shizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2002, 13(6): 324-326.

收稿日期:2008-08-14

《中文核心期刊要目总览》2008 年版已正式出版,依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《中国现代应用药理学》入编《中文核心期刊要目总览》2008 年版(即第五版)之药理学类(共 17 种)的核心期刊。