

表现出轻微的局部不良反应,表明本品的安全性较高。

综上所述,利拉萘酯喷雾剂和乳膏均具有良好的经皮渗透特性。由于喷雾剂具有给药量精确、使用方便、患者依从性高的优点,利拉萘酯喷雾剂为患者增加了一种新的剂型选择。

REFERENCES

- [1] LUO R, GUO S, LIU X F. Clinical application of antifungal drug liranaftate [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2004, 13(12): 1411-1413.
- [2] TAO S J, WANG Y, GU J, et al. Liranaftate cream in treatment of tinea cruris and tinea corporis: a multicenter randomized double-blind vehicle-controlled clinical trial [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2007, 26(12): 881-884.
- [3] YAN H L, PENG Z H, YANG S, et al. Liranaftate cream in

the treatment of tinea cruris and tinea corporis: a randomized double-blind vehicle-controlled clinical trial [J]. Chin J Dermvenereol(中国皮肤性病杂志), 2006, 20(7): 411-413.

- [4] WANG Y, SHEN Y N, ZHU H M, et al. Liranaftate cream in the treatment of tinea cruris, tinea corporis and tinea pedis: a multicenter, randomized, double-blind, controlled trial [J]. Chin J Dermatol(中国皮肤科杂志), 2007, 40(8): 476-478.
- [5] ZHAO W J, WANG Z Q, DU H, et al. Establishment of transdermal release and content determination of the liranaftate ointment [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2010, 30(5): 391-393.
- [6] CHEN W J. Therapeutic Effect of liranaftate cream in the treatment of 40 cases of tinea manuum & pedis and tinea corporis & cruris [J]. South China J Dermato-Venereology(岭南药学杂志), 2010, 15(1): 12-14.
- [7] 全薬工業株式会社. 日本病院薬剤師会の IF 記載要領.ZEFNART® CREAM2%.SOLUTION 2% [EB/OL]. http://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/380101_2659712N1020_1_A01_1F.

收稿日期: 2015-04-16

UPLC-MS/MS 同时检测人尿液中 8 种苯二氮草类及 3 种非苯二氮草类镇静催眠药

董占军, 安静, 魏欣, 宋浩静, 白万军(河北省人民医院药学部, 石家庄 050051)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定人尿液中 8 种苯二氮草类及 3 种非苯二氮草类药物的浓度。方法 尿液样品采用二氯甲烷:正己烷:乙酸乙酯(5:4:1)进行萃取, Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)进行分离, 乙腈-0.1%氨水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.2 mL·min⁻¹, 通过电喷雾离子源, 多重反应监测正离子模式进行检测。结果 11 种被分析物在所测浓度范围内呈现良好的线性关系, 相关系数均>0.99, 除右佐匹克隆检测限为 0.5 ng·mL⁻¹, 其他物质检测限为 0.01~0.02 ng·mL⁻¹, 11 种被分析物的日内、日间 RSD 均<15.0%(n=5), 提取回收率为 68.8%~115.0%, 基质效应为 0.85~1.14。结论 该方法快速、灵敏、准确, 适用于同时检测人尿中 8 种苯二氮草类及 3 种非苯二氮草类药物浓度。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱; 镇静催眠药; 同时测定; 人尿液

中图分类号: R927.2; R971.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1109-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.020

Simultaneous Determination of 8 Kinds of Benzodiazepines and 3 Kinds of Non-benzodiazepines in Human Urine by UPLC-MS/MS

DONG Zhanjun, AN Jing, WEI Xin, SONG Haojing, BAI Wanjun(Department of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a rapid UPLC-MS/MS method for the determination of 8 kinds of benzodiazepines and 3 kinds of non-benzodiazepines in human urine. **METHODS** The urine samples were extracted with dichloromethane : n-hexane : acetoacetate(5 : 4 : 1). The separation was performed on a Waters ACQUITY UPLC HSS T3 column(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) using the mobile phase of acetonitrile-0.1% ammonium solution at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹ in gradient

基金项目: 河北省科技计划项目(14273002D)

作者简介: 董占军, 男, 硕士, 主任药师

Tel: (0311)86988604

E-mail: 13313213656@126.com

elution mode. The detection was performed on a triple quadrupole tandem mass spectrometer by multiple reaction monitoring via electrospray ionization source in positive mode. **RESULTS** Good linear relation was obtained over the investigated concentration range, with all correlation coefficients >0.99. The limit detection was 0.5 ng·mL⁻¹ for dexzopiclone and 0.01–0.02 ng·mL⁻¹ for other sedativehypnotics. The intra- and inter-day RSDs were <15%(n=5). The recoveries were in 68.8%–115.0%. The matrix effects were approximately 0.85–1.14. **CONCLUSION** This method is rapid, sensitive, reliable, and suitable for the simultaneous determination of 8 kinds of benzodiazepines, zolpidam, zaleplone and dexzopiclone in human urine.

KEY WORDS: UPLC-MS/MS; sedativehypnotics; simultaneous determination; human urine

苯二氮草类药物广泛用于镇静催眠、抗焦虑、麻醉、肌肉松弛等。唑吡坦、扎来普隆、右佐匹克隆是苯二氮草受体激动剂，具有起效迅速、半衰期短等特点，长期使用具有成瘾性，并可导致中毒，故利用该类物质进行自杀、抢劫等时有发生。因此，需要建立快速灵敏的方法来鉴定及检测该类物质。大多数文献^[1-5]选择了血浆作为分析样本，采用尿液样品的较少。尿液样品具有容易收集、采样无痛苦等优点，是常用的刑侦检材。袁烨等^[6]采用 GC-MS 测定人尿液中 10 种常见安眠药物，但 GC-MS 的灵敏度较液相质谱法低，检测限为 0.02~0.3 μg·mL⁻¹。本实验建立了尿液样品中 8 种苯二氮草类药物及 3 种非苯二氮草药物的同时检测分析法，灵敏度达到了 0.01~0.02 ng·mL⁻¹，10 min 内完成了对 11 种物质的分析，为该类物质提供了灵敏快速的检测手段。

1 仪器与试剂

SHIMADZU LC-30AD 超高效液相色谱系统(日本岛津); AB Sciex Triple Quad 5500 三重四级杆串联质谱仪(美国 AB 公司); Hettich Zentrifuge 1602 高速低温离心机(德国 Hettich 公司); KQ3200E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AB204-S 标准型分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO); XW-80A 旋涡混合器(上海精科实业有限公司)。

地西洋(批号: 171225-201304, 纯度: 99.2%)、艾司唑仑(批号: 171219-201003, 纯度: 99.7%)、氯硝西洋(批号: 171227-201103, 纯度: 100.0%)、奥沙西洋(批号: 171229-201104)、三唑仑(批号: 171230-201203, 纯度: 99.6%)、氯氮草(批号: 171248-200702, 纯度: 99.7%)、马来酸咪达唑仑(批号: 171250-201002, 纯度: 99.9%)、劳拉西洋(批号: 171253-201102, 纯度: 99.2%)、酒石酸唑吡坦(批号: 171258-200601, 纯度: 99.0%)、扎来普隆(批号: 100670-200401, 纯度: 98.5%)、右佐匹克隆(批号: 100871-200801, 纯度: 100.0%)、卡马西平(内标, 批号: 100142-201105, 纯度: 99.0%)

均购自中国食品药品检定研究院。

二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、乙腈、甲醇、甲酸、甲酸铵均为色谱纯，均购自 Fisher Scientific; 氢氧化钠(分析纯，天津永大化学试剂有限公司); 水为娃哈哈纯净水; Waters Oasis HLB Cartridge(美国 Waters)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)。流动相: 0.1%氨水(A)-乙腈(B), 梯度洗脱: 0~1.00 min, 70%A, 1.00~6.00 min, 70%→10%A; 6.00~7.00 min, 10%A; 7.00~7.01 min, 10%→70%A, 保持 3 min。流速为 0.2 mL·min⁻¹, 柱温: 40℃, 进样量: 5 μL。

2.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI 源), 正离子模式, 多反应监测(MRM); 气帘气(CUR)压力: 35 kPa; 碰撞气(CAD)压力: 8 kPa, 电喷雾电压(IS): 5 500 V, 去溶剂温度(TEM): 650 ℃, 雾化气(GS1)压力: 65 kPa, 辅助气(GS2)压力: 65 kPa, 射入电压(EP): 10 V, 碰撞室射出电压(CXP): 14 V, 被分析物的监测离子及扫描时间、去簇电压、碰撞电压等参数见表 1。

表 1 质谱参数值

Tab. 1 Parameters of mass spectrometry

化合物	母离子质 量数(m/z)	子离子质 量数(m/z)	驻留时间/ ms	去簇电压/ eV	碰撞能/ eV
劳拉西洋	321.2	275.0	50	150	30
艾司唑仑	295.1	205.1	50	170	54
地西洋	285.1	193.1	50	60	41
奥沙西洋	287.2	241.0	50	160	30
三唑仑	343.1	239.1	50	195	59
咪达唑仑	326.1	291.2	50	222	37
氯硝西洋	316.1	270.2	50	55	34
氯氮草	300.2	227.1	50	130	34
右佐匹克隆	389.3	245.0	50	65	24.6
唑吡坦	308.2	263.1	50	90	34
扎来普隆	306.2	236.1	50	100	38
卡马西平	237.3	151.2	50	100	30.4

2.3 对照品溶液的配制

精密称取各对照品适量, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得地西洋、艾司唑仑、氯硝西泮、奥沙西泮、三唑仑、氯氮草、马来酸咪达唑仑、劳拉西泮、酒石酸唑吡坦、扎来普隆、佐匹克隆对照品储备液, 浓度分别为 1.02, 1.01, 1.00, 1.00, 1.02, 1.02, 1.00, 1.03, 1.06, 1.04, 1.02 mg·mL⁻¹, 置 4 °C 冰箱中保存。同法配制 1 mg·mL⁻¹ 的卡马西平内标溶液。

精密吸取各对照品储备液适量置同一量瓶中, 用甲醇准确配制为浓度均约为 1 000 ng·mL⁻¹ 的混合对照品溶液, 并逐级稀释成浓度约为 200, 100, 50, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2 ng·mL⁻¹ 的系列混合对照品溶液。

2.4 尿液样品的制备

取人空白尿液 0.5 mL 置 5 mL 塑料离心管中, 加入 50 μL 混合对照品溶液, 制成模拟尿液样品。加入 50 μL 内标溶液(10 μg·mL⁻¹), 涡旋混匀 15 s, 加入 50 μL 0.01 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液, 涡旋混匀 15 s, 加 2 mL 萃取溶液(二氯甲烷: 正己烷: 乙酸

乙酯为 5:4:1), 振荡萃取 1 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清, 氮气吹干, 用 0.5 mL 乙腈-水(80:20)复溶, 取 5 μL 进样分析。

2.5 方法学考察

2.5.1 选择性 通过比较空白尿基质与模拟生物样品(空白尿中添加对照品), 考察空白尿中有无干扰被分析物的信号存在。在该检测条件下, 将混合对照品溶液和空白尿(6 个不同来源)进样, 空白尿中无干扰 11 种被分析物的信号存在。结果见图 1。

2.5.2 线性关系、最低定量限及检测限 取一定量的空白尿, 加入一定体积的“2.3”项下系列混合对照品溶液制成相当于被分析物浓度为 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 20 ng·mL⁻¹ 的模拟尿样品, 加入内标溶液, 按“2.4”项下方法处理尿液样品, 按“2.1”和“2.2”项下色谱质谱条件, 取 5 μL 注入 UPLC-MS/MS 系统, 记录峰面积。以待测物浓度为横坐标(x), 待测物与内标物峰面积比值为纵坐标(y), 用加权($w=1/x$ 或 $1/x^2$)最小二乘法进行回归运算。结果见表 2。

表 2 11 种镇静催眠药的标准曲线、检测限、最低定量限

Tab. 2 Calibration curves, limit of detection and limit of quantitation of the 11 kinds of sedativehypnotics

化合物	线性方程	线性范围/ng·mL ⁻¹	相关系数	检测限/ng·mL ⁻¹	最低定量限/ng·mL ⁻¹
劳拉西泮	$y=0.402x+0.006\ 57(1/x)$	0.02~20	0.996 6	0.01	0.02
艾司唑仑	$y=0.433x+0.011\ 5(1/x)$	0.02~20	0.998 2	0.01	0.02
地西洋	$y=0.455x+0.001\ 56(1/x)$	0.05~10	0.998 6	0.02	0.05
奥沙西泮	$y=0.42x+0.007\ 76(1/x)$	0.05~10	0.997 9	0.02	0.05
三唑仑	$y=0.51x+0.005\ 05(1/x)$	0.02~10	0.997 9	0.01	0.02
咪达唑仑	$y=1.05x+0.013\ 7(1/x)$	0.02~5	0.997 8	0.01	0.02
氯硝西泮	$y=0.448x+0.010\ 9(1/x)$	0.05~20	0.998 1	0.02	0.05
氯氮草	$y=0.468x+0.002\ 03(1/x^2)$	0.05~20	0.994 3	0.02	0.05
右佐匹克隆	$y=0.0054\ 2x+0.003\ 78(1/x)$	1.00~20	0.998 1	0.50	1.00
唑吡坦	$y=1.44x+0.029\ 3(1/x^2)$	0.02~20	0.993 2	0.01	0.02
扎来普隆	$y=0.371x+0.012\ 4(1/x)$	0.05~20	0.998 3	0.02	0.05

以信噪比(S/N) ≥ 10 , 同时满足回收率和精密度要求(即采用 5 个重复样品, 其精密度的 RSD 应 $\leq 20\%$, 误差在参考值的 $\pm 20\%$ 以内)的样品最低浓度为最低定量限, 即线性的最低点。在最低浓度附近添加一系列已知浓度的 2 份样品进行检测, 并选取分析物峰附近的一段基线为参照, 计算选

定色谱峰的 S/N , $S/N\geq 3$ 时的样品最低浓度为检测限。结果如表 2 所示, 11 种镇静催眠药在所测质量浓度范围内呈现良好的线性关系, 相关系数均 $>0.993\ 2$, 检出限除右佐匹克隆为 0.5 ng·mL⁻¹, 其他均为 0.01~0.02 ng·mL⁻¹, 表明本方法适用于人尿中 11 种镇静催眠药的分析。

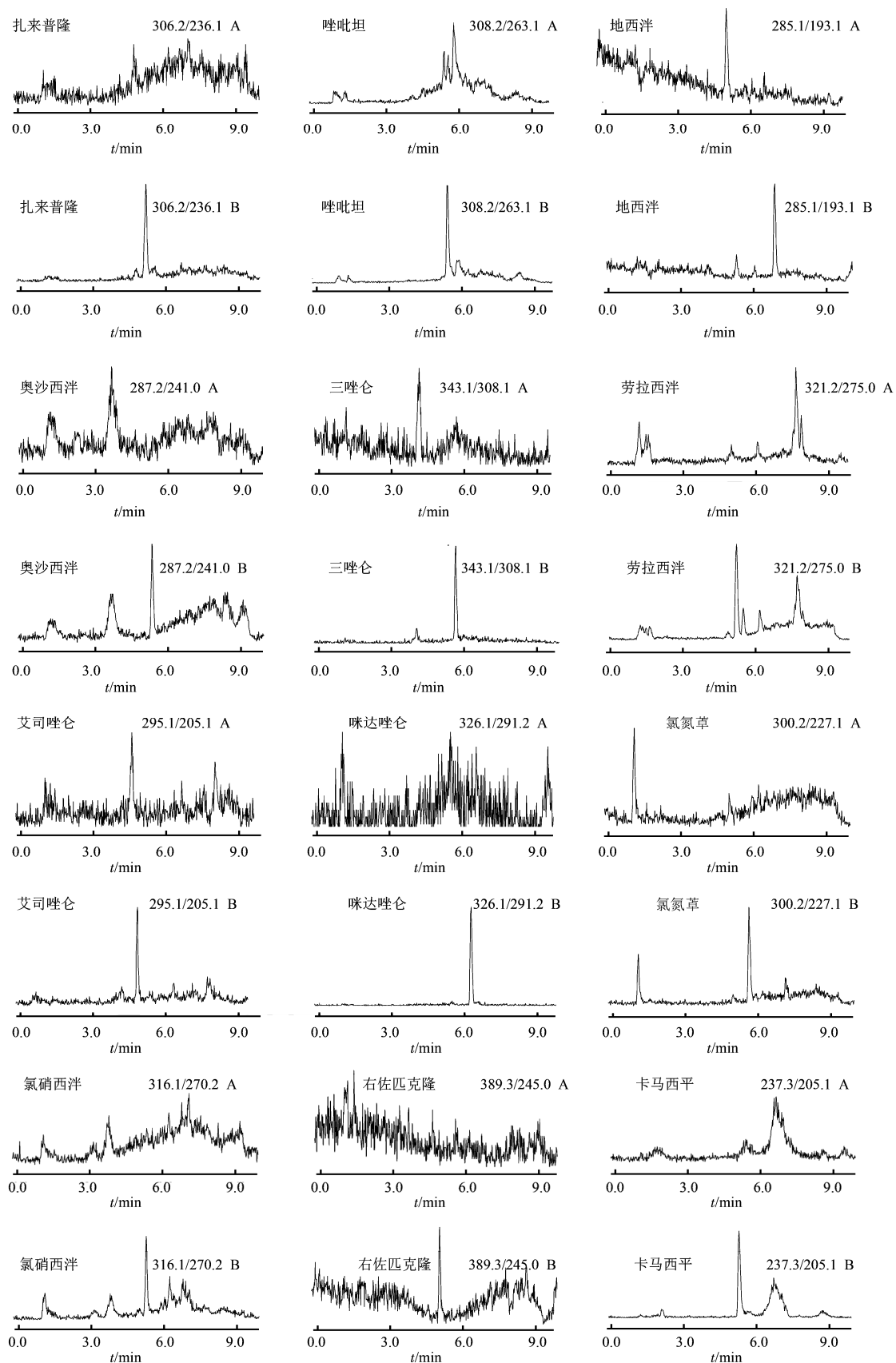


图 1 典型色谱图

A-空白尿; B-空白尿添加对照品。

Fig. 1 The typical chromatograms

A-blank urine; B-blank urine spiked with reference substance.

2.5.3 精密度与回收率 用人空白尿配制低、中、高 3 个浓度(同质控样品)的样品各 5 份,连续测定 3 d,用随行标准曲线计算相应的药物浓度,分别考察日内和日间精密度与回收率。地西泮、艾司唑仑、氯硝西泮、奥沙西泮、三唑仑、氯氮草、马来酸咪达唑仑、劳拉西泮、酒石酸唑吡坦、扎来普隆、右佐匹克隆的日内、日间精密度均<15.0%;除氯硝西泮在最低定量限的回收率为 80.6%,其他物质回收率为 88.4%~114.5%内。结果见表 3。

表 3 测定方法的精密度和回收率($n=5$)

Tab. 3 Precision and accuracy of the assay method($n=5$)

化合物	加入量/ ng·mL ⁻¹	日内			日间		
		测得量/ ng·mL ⁻¹	RSD/ %	回收率/ %	测得量/ ng·mL ⁻¹	RSD/ %	回收率/ %
劳拉西泮	0.05	0.056	12.7	113.2	0.057	9.3	114.5
	0.5	0.51	11.6	101.8	0.52	9.5	104.2
	5	4.8	8.3	97.1	5.2	11.3	103.4
艾司唑仑	0.05	0.044	12.9	88.4	0.053	14.1	106.9
	0.5	0.56	6.9	112.0	0.55	6.6	110.5
	5	5.2	7.3	103.4	5.6	11.8	112.2
地西泮	0.05	0.049	8.1	98.5	0.049	6.3	98.2
	0.5	0.57	6.7	113.9	0.53	13.5	105.6
	5	5.2	10.7	103.3	5.1	10.9	101.0
奥沙西泮	0.05	0.047	13.9	93.4	0.049	12.6	97.8
	0.5	0.50	10.6	99.2	0.51	11.9	102.9
	5	4.7	9.3	94.6	4.9	10.1	98.1
三唑仑	0.05	0.056	14.2	112.8	0.057	11.6	114.0
	0.5	0.56	7.6	111.2	0.52	12.8	104.3
	5	5.13	9.8	102.5	5.7	15.0	114.0
咪达唑仑	0.05	0.049	9.0	97.5	0.051	9.8	102.5
	0.5	0.57	4.9	113.4	0.57	6.0	113.6
	5	4.7	7.1	94.2	5.1	12.7	101.4
氯硝西泮	0.05	0.040	3.0	80.6	0.045	12.9	90.6
	0.5	0.50	4.3	100.8	0.48	7.5	96.4
	5	5.1	10.7	101.4	5.5	13.4	109.3
氯氮草	0.05	0.049	4.7	97.6	0.048	7.6	95.2
	0.5	0.57	7.2	115.0	0.53	9.0	106.4
	5	4.68	6.7	93.5	4.4	10.8	87.5
右佐匹克隆	1	1.03	13.8	103.2	1.09	13.0	108.8
	5	4.8	14.9	95.8	4.6	11.7	92.9
	20	10.2	7.6	102.6	107.0	8.5	106.7
唑吡坦	0.05	0.051	15.0	101.6	0.050	12.0	100.7
	0.5	0.52	5.9	104.2	0.55	9.1	109.9
	5	1.5	8.4	89.6	4.8	13.3	97.0
扎来普隆	0.05	0.051	13.7	101.8	0.052	11.1	104.1
	0.5	0.50	7.9	99.1	0.51	7.7	102.3
	5	5.0	12.9	98.9	5.1	13.0	102.1

2.5.4 提取回收率和基质效应 按照前述方法配制含低、中、高 3 个浓度的标准尿液样品,每个浓度平行制备 5 份,按“2.4”项下所述方法处理后进行色谱分析,记录峰面积为 C 。空白尿按“2.4”项下方法处理后得到空白尿的提取液,分别加入对照品及内标溶液制成低、中、高 3 个浓度水平的样品,每个浓度平行制备 5 份,进样分析,记录峰面积为 B 。同浓度的对照品溶液,不经处理直接进样记录峰面积为 A 。内源性物质所引起的基质效应表示为 B/A ,提取回收率为 C/B 。11 种被分析物的提取回收率为 68.8%~115.0%,基质效应为 0.85~1.14;内标的提取回收率为 70.0%,基质效应为 0.90。

2.5.5 稳定性考察 分别考察样品在室温条件下储存 24 h 的短期稳定性和经 3 次冷冻-解冻(-20~-20℃)循环后的稳定性,采用冻融样品与新鲜制备的样品对照获得。尿液样品中被分析物的稳定性均在 0.2, 10 ng·mL⁻¹ 2 个浓度下考察。被分析物 24 h 的短期稳定性和经 3 次冷冻-解冻循环后的质控样品与新鲜配制的样品初始浓度差异分别在 12.3%、15.1%以内,表明被分析物 24 h 的短期稳定性和经 3 次冷冻-解冻循环的稳定性良好。

3 讨论

本试验采用 UPLC-MS/MS 同时检测了人尿液中地西泮、艾司唑仑、氯硝西泮、奥沙西泮、三唑仑、氯氮草、马来酸咪达唑仑、劳拉西泮、酒石酸唑吡坦、扎来普隆、右佐匹克隆的含量,方法快速灵敏、结果可靠,可用于该类物质的快速检定。

对于镇静催眠类药物的测定,大多数文献测定的也是血浆中的药物浓度,测定尿液药品中浓度的较少。而尿液样本作为被检测的生物基质有独特的优势,尿液样本采集方便、无痛苦,患者易于接受。

在色谱条件优化过程中发现,与甲醇相比,使用乙腈为有机相能使峰形更加尖锐、色谱峰更窄。为了改善被分析的色谱行为,水相的添加剂考察了甲酸、甲酸铵-甲酸、氨水,结果发现,当加入 0.1%的氨水溶液时,被分析物具有较好的响应,因此,最终选择了乙腈和 0.1%的氨水溶液。

REFERENCES

[1] WANG W, LIU Y S, QIAO S, et al. Simultaneous

- determination of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(11): 1215-1220.
- [2] LI X F, TANG L, LUO Y C, et al. Determination of benzodiazepines drugs in blood using isolate SLE-supported liquid extraction and GC-MS/MS [J]. For Sci Tech(刑事技术), 2014(2): 27-29.
- [3] WANG X Q, LIN D, LI Y X, et al. LC-APCI-MS/MS simultaneous determination of 7 benzodiazepine drugs in human plasma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 29(3): 403-407.
- [4] LIU L X, CUI Y M. RP-HPLC simultaneous determination of 7 benzodiazepines in human plasma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(2): 336-339.
- [5] GUO S C, LI H, GU N, et al. Simultaneous determination of eight kind of benzodiazepines in human plasma by RP-HPLC [J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2010, 25(4): 453-455.
- [6] YUAN Y, GUO W W, LI J, et al. Simultaneous determination of 10 kinds of common hypnotics in human urine by GC-MS [J]. China Pharm(中国药房), 2013, 24(46): 4362-4364.
- [7] ZHANG J L, WANG Z L, ZHANG Y N. Simultaneous determination of benzodiazepines and their metabolites in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab(分析实验室), 2014, 33(4): 479-482.
- 收稿日期: 2015-04-24

HPLC 测定三七提取液中三七皂苷 $R_2(S)$ 、七叶胆苷 XVII 和人参皂苷 F_2 的含量

陈华丽, 潘坚扬, 瞿海斌, 龚行楚^{*}(浙江大学药物信息学研究所, 浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要:目的 建立同时测定三七提取液中三七皂苷 $R_2(S)$ 、七叶胆苷 XVII 及人参皂苷 F_2 含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters Acquity UPLC CSH- C_{18} (50 mm×2.1 mm, 1.7 μ m), 流动相为 0.01%甲酸-水(A)和 0.01%甲酸-乙腈(B), 梯度洗脱, 检测波长为 203 nm, 进样量为 5 μ L, 流速为 0.35 mL·min⁻¹, 柱温为 40 $^{\circ}$ C。结果 在 43 min 内可完成三七皂苷 $R_2(S)$ 、七叶胆苷 XVII 和人参皂苷 F_2 的分离测定。3 种皂苷峰面积和浓度线性关系良好($r^2>0.999$ 8); 日内和日间精密度 RSD<3.4%; 回收率为 98.4%~102.1%。结论 该方法简便、准确, 重复性好, 可用于三七提取液中皂苷成分的测定。

关键词:三七提取液; 三七皂苷 $R_2(S)$; 七叶胆苷 XVII; 人参皂苷 F_2 ; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)09-1114-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.09.021

Determination of Notoginsenoside $R_2(S)$, Gypenoside XVII and Ginsenoside F_2 in Notoginseng Radix et Rhizoma Extracts by HPLC

CHEN Huali, PAN Jianyang, QU Haibin, GONG Xingchu^{*}(Pharmaceutical Informatics Institute, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC method for the simultaneous determination of notoginsenoside $R_2(S)$, gypenoside XVII and ginsenoside F_2 in Notoginseng Radix et Rhizoma extracts. **METHODS** The analysis was performed on an Agilent 1260 series HPLC system with Waters Acquity UPLC CSH- C_{18} (50 mm×2.1 mm, 1.7 μ m) column. Gradient elution using 0.01%-formic acid-water and 0.01%-formic acid-acetonitrile as the mobile phases with detection wavelength of 203 nm, flow rate of 0.35 mL·min⁻¹, injection volume 5 μ L and column temperature 40 $^{\circ}$ C was applied. **RESULTS** The total analyzing time was 43 min. The high determination coefficient values ($r^2>0.999$ 8) indicated good correlations between saponin concentrations and their peak areas within the test ranges. The overall intra-day and inter-day variations (RSD) of 3 major saponins were <3.4%. The developed method was successfully used for the analysis of saponins in Notoginseng Radix et Rhizoma extracts with overall recovery of 98.4%–102.1% for all the analytes. **CONCLUSION** This analytical method is accurate and convenient for the determination of 3 saponins in *Panax notoginseng* extracts.

KEY WORDS: *Panax notoginseng* extracts; notoginsenoside $R_2(S)$; gypenoside XVII; ginsenoside F_2 ; HPLC

基金项目: 浙江省教育厅科研项目(Y201225492)

作者简介: 陈华丽, 女, 硕士生 Tel: (0571)88208426 E-mail: 21219025@zju.edu.cn *通信作者: 龚行楚, 男, 博士, 助理研究员 Tel: (0571)88208426 E-mail: gongxingchu@zju.edu.cn