

文章编号:1001-6880(2014)Suppl-0060-04

# 高效液相色谱法测定三七消栓片中三七皂苷R<sub>1</sub>的含量

周淑琴<sup>1,2\*</sup>,陈群力<sup>1,2</sup><sup>1</sup>上海医药高等专科学校药学系; <sup>2</sup>上海交通大学医学院附属卫生学校,上海 201318

**摘要:**建立了高效液相色谱法(HPLC)测定三七消栓片中三七皂苷R<sub>1</sub>的含量。采用Phenomenex Luna C<sub>18</sub>(4.6×250 mm,5 μm)色谱柱,以乙腈和水为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,柱温30 ℃,检测波长203 nm。在此条件下三七皂苷R<sub>1</sub>在0.02922~1.984 mg/mL的浓度范围内线性良好( $r=0.9999$ ),平均加样回收率为99.37%,RSD为2.1%。该方法简单、准确,专属性强,重现性好,可用于三七消栓片中三七皂苷R<sub>1</sub>指标的质量控制。

**关键词:**三七消栓片;三七皂苷R<sub>1</sub>;高效液相色谱法;前处理;氢氧化钠溶液

中图分类号:R917

文献标识码:A

## Determination of Notoginsenoside R<sub>1</sub> in Sanqi Xiaoshuan Tablets by HPLC

ZHOU Shu-qin<sup>1,2\*</sup>, CHEN Qun-li<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Shanghai Institute of Health Sciences, Shanghai 201318, China; <sup>2</sup>Affiliated Health School, College of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201318, China

**Abstract:** A HPLC method for the determination of notoginsenoside R<sub>1</sub> in Sanqi Xiaoshuan Tablets was established. The separation was carried on a Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column (4.6×250 mm, 5 μm) and acetonitrile-water was employed as the mobile phase in gradient elution mode. The flow rate was 1.0 mL/min with UV detected wavelength at 203 nm and the column temperature was set at 30 ℃. The linear range of notoginsenoside R<sub>1</sub> was 0.02922~1.984 mg/mL ( $r=0.9999$ ). The average recovery was 99.37% and RSD was 2.1%. The method is simple, accurate, specific and reproducible. It is suitable to the quality control of Sanqi Xiaoshuan Tablets.

**Key words:** Sanqi Xiaoshuan Tablets; Notoginsenoside R<sub>1</sub>; HPLC; preparation; sodium hydroxide solution

三七消栓片为治疗心脑血管疾病的复方中药,主要由三七、红花、川芎、当归、地龙和赤芍等8味中药组成,君药三七以生粉入药,与其余药的水提浸膏粉末混合压片。

三七中含有多种皂苷成分,有人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Re、Rb和三七皂苷R<sub>1</sub>等,与人参等其他五加科中药相比,三七皂苷R<sub>1</sub>为三七中特有的成分<sup>[1,2]</sup>,所以选择三七皂苷R<sub>1</sub>作为复方中三七药材相关的制剂质量控制指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪,含四元泵、自动

进样器、柱温箱、VWD 检测器和 Agilent ChemStation 色谱工作站(美国安捷伦公司);XP 205 分析天平(0.01 mg,梅特勒-托利多仪器有限公司);FA2104N 分析天平(0.1 mg,上海精密科学仪器有限公司);SK5200 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);HWS-26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);Milli-Q 型超纯水制备仪(密理博中国有限公司)。

#### 1.1.2 试药

三七皂苷R<sub>1</sub>对照品(批号:110745-200617,中国药品生物制品检定所);三七消栓片3批(批号分别为130520、130709和130710,均为自制);阴性样品(按照工艺制备缺三七的阴性样品,自制);氢氧化钠(分析纯,国药试剂化学有限公司);正丁醇、甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,上海星可生化有限公司);水(自制超纯水)。

### 1.2 实验方法

收稿日期:2014-08-29 接受日期:2014-10-24

基金项目:上海高职高专重点专业“085工程”飞跃计划

\*通讯作者 E-mail:zhousq5573@163.com

### 1.2.1 色谱条件

Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 × 250 mm, 5 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 12 min, 19% A; 12 ~ 30 min, 19 ~ 26% A; 30 ~ 35 min, 26 ~ 80% A),体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 °C,检测波长 203 nm,进样量 10 μL。

### 1.2.2 对照品溶液的制备

精密称取三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品 19.48 mg,加甲醇稀释成 1.948 mg/mL 三七皂苷 R<sub>1</sub> 的对照品溶液母液;精密吸取 1.5 mL 对照品溶液母液至 10 mL 容量瓶内,加甲醇稀释,得到浓度为 0.2922 mg/mL 三七皂苷 R<sub>1</sub> 的对照品溶液。

### 1.2.3 供试品溶液的制备

片剂刮除包衣,研成颗粒,取颗粒约 0.7 g,精密

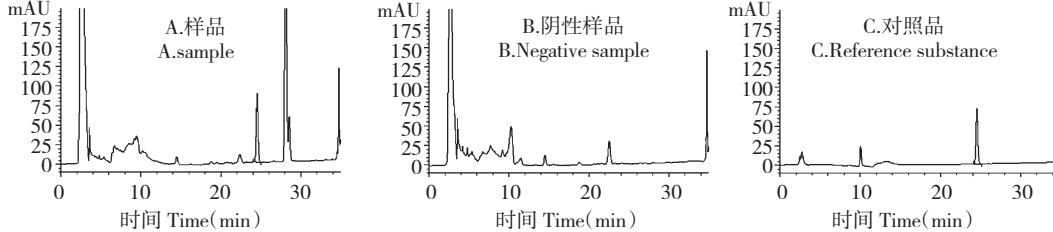


图 1 三七皂苷 R<sub>1</sub> 含量测定色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms for notoginsenoside R<sub>1</sub> determination

### 2.1.2 线性关系的考察

精密称取三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品适量, 制成浓度 1.948 mg/ml 将对照品溶液, 依次稀释成浓度为 0.02922、0.07305、0.1461、0.2922、0.487 和 0.974 mg/ml 的对照品溶液, 进样 10 μL, 记录峰面积, 以峰面积对进样浓度进行线性回归, 得回归方程为:  $Y = 2562.87X + 17.32, r = 0.9999$ 。结果表明: 三七皂苷 R<sub>1</sub> 在 0.02922 ~ 1.948 mg/ml 范围内, 峰面积与进样浓度呈良好的线性关系。

### 2.1.3 精密度试验

精密吸取浓度为 0.2922 mg/mL 的三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 平均峰面积为, RSD 为 0.2%, 表明进样精密度良好。

### 2.1.4 重复性试验

取三七消栓片(批号 130520), 按 1.2.3 项下方法测定, 重复测定 6 份, 计算样品中平均浓度为 4.516 mg/g, RSD 为 1.2%, 结果表明样品测定重复性良好。

### 2.1.5 稳定性试验

取三七消栓片(批号 130520), 按 1.2.3 项下方

称定, 置于容量瓶内, 加 20 mL 正丁醇(水饱和)回流提取 1 h, 过滤并将滤液补足至 20 mL, 以 0.1% 氢氧化钠溶液(正丁醇饱和)5 mL 萃取 1 次, 正丁醇层蒸干, 以甲醇 10 mL 溶解, 即得。

### 1.2.4 阴性样品的制备

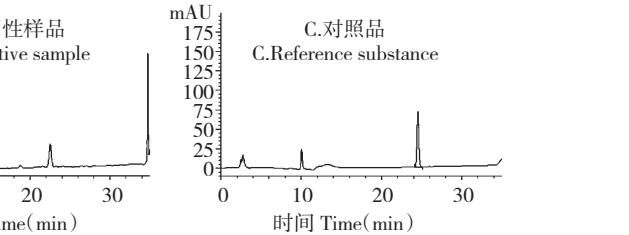
取阴性样品适量, 按照“1.2.3”项下方法操作, 制得三七消栓片阴性样品。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法学考察结果

#### 2.1.1 专属性

分别对三七消栓片供试品、三七阴性样品和三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品进样分析, 结果显示阴性样品不干扰三七皂苷 R<sub>1</sub>( $t_R$  24.5 min)的测定, 色谱图见图 1。



法测定, 于 0、2、4、6、8 和 12 h 进样测定, RSD 为 1.1%, 结果表明在 12 小时内供试品溶液基本稳定。

#### 2.1.6 加样回收率试验

取已测定三七皂苷 R<sub>1</sub> 含量的供试品约 0.35 g (批号 130520, 三七皂苷 R<sub>1</sub> 含量 4.516 mg/g)9 份, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入三七皂苷 R<sub>1</sub> 对照品溶液(1.948 mg/mL)适量(低浓度 0.6 mL、中浓度 0.8 mL 和高浓度 1.0 mL), 按 1.2.3 项下方法测定。回收率结果见表 1。结果表明, 此方法三七皂苷 R<sub>1</sub> 的平均回收率为 99.37%, 符合要求。

#### 2.1.7 样品测定结果

取片剂 3 批, 按照 1.2.3 项下方法测定三七皂苷 R<sub>1</sub> 的含量, 结果见表 2。

### 2.2 讨论

三七作为临床常用中药, 含有三七的中药制剂的质量控制质量方法向来是中药分析的难点之一。一般选取其中的三七皂苷<sup>[3]</sup> 和人参皂苷<sup>[4]</sup> 类成分作为质控指标。测定方法上, 除了早期的紫外可见分光光度计法<sup>[5]</sup>、薄层扫描法<sup>[6]</sup> 和毛细管电泳法<sup>[7]</sup>,

表 1 三七皂苷 R<sub>1</sub> 加样回收率试验结果Table 1 Results of recovery tests for Notoginsenoside R<sub>1</sub>

编号 NO	取样量 Sample amount (g)	样品中的 含量 Content in sample (mg)	对照品 加入量 Standard added (mg)	峰面积 Area of sample	测得总量 Total content determined (mg)	回收率 Recovery (%)	平均 回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	0.3442	1.554	1.169	697.1	2.709	98.78		
2	0.3452	1.559	1.169	705.4	2.741	101.15		
3	0.3445	1.556	1.169	707.2	2.748	102.02		
4	0.3541	1.599	1.558	812.1	3.156	99.89		
5	0.3572	1.613	1.558	817.6	3.177	100.36	99.37	2.1
6	0.3593	1.623	1.558	823.6	3.200	101.25		
7	0.3419	1.544	1.948	877.5	3.410	95.79		
8	0.3451	1.558	1.948	882.7	3.430	96.08		
9	0.3463	1.564	1.948	898.6	3.492	98.98		

表 2 样品测定结果(*n*=3)Table 2 Assay results of 3 batch samples (*n*=3)

批号 Batch	三七皂苷 R <sub>1</sub> 含量 Content of Notoginsenoside R <sub>1</sub> in Sanqi Xiaoshuan Tablets (mg/g)	RSD(%)
130520	4.516	0.9
130709	4.221	1.2
130710	4.157	1.1

主要采取高效液相色谱法,选取紫外检测器<sup>[8]</sup>、蒸发光散射检测器<sup>[9,10]</sup>、电雾式检测器<sup>[10]</sup>和质谱检测器<sup>[11]</sup>作为检测手段。

紫外检测器是最稳定可靠的检测手段,但是因为三七药材含有种类复杂的皂苷类成分,在紫外检测接近末端吸收的波长处干扰较多,基线不平稳,而复方制剂中的其他药材又带来更多的干扰物质。为能确定合适的含量测定条件,一般需要摸索出合适的制剂前处理方法。

含三七制剂的皂苷类成分测定的常用前处理方法有甲醇直接提取法、甲醇提取-正丁醇复溶-氨试液萃取法<sup>[12]</sup>、甲醇提取-大孔树脂吸附法<sup>[13,14]</sup>、甲醇提取-氧化铝柱吸附法<sup>[15]</sup>、正丁醇提取-氨试液萃取法<sup>[4]</sup>。

本实验过程中发现,前处理方法的选择在三七消栓片中三七皂苷 R<sub>1</sub> 的测定中具有决定性的意义,而梯度洗脱分离条件的优化则起到辅助作用。由于三七消栓片中含有大量的有机酸,所以前处理中使用氢氧化钠作为除杂萃取溶液,本实验在考察了 1%、0.5%、0.2%、0.1% 各浓度氢氧化钠溶液和氨试液之后,选择除杂效果和回收率都能兼顾的

0.1% 氢氧化钠溶液作为除杂溶液。

## 参考文献

- Wang HJ(王海静), Yan MM(严铭铭), Shao S(邵帅), et al. Comparison of ginseng and notoginseng on chemical composition and pharmaceutical action. *Ginseng Res* (人参研究), 2008(1):2-11.
- Bao JC(鲍建才), Liu G(刘刚), Cong DL(丛登立), et al. Study progress of chemical components in *Panax Notoginseng*. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2006, 28:246-253.
- Wang B(汪冰), You HL(尤慧莲), Xu LH(徐丽华). Determination of 5 compounds in Qishen capsules by HPLC. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2012, 34:483-486.
- Xu WP(徐维平), Jiang L(姜玲), Jiang L(蒋磊), et al. Determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub> in compound pseudo-ginseng tablets by HPLC. *Chin Pharm* (中国药业), 2006, 14(10):35-36.
- Liu X(刘旭), Fu QJ(付青姐), Li CM(李明春), et al. Determination of notoginseng triterpenes by UV. *Prac J Med Pharm* (实用医药杂志), 2008, 25:452.
- Zhao RZ(赵瑞芝), Zhao DX(赵代鑫), Yang NZ(杨霓芝). Determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and notoginsenoside R<sub>1</sub> in Yiqi Gushen dialysis liquid by solid phase extraction and TLC densitometric method. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2007, 28:1739-1742.
- Li X(李霞), Yang JT(杨建婷), Liu XQ(柳小秦), et al. Determination of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re and notoginsenoside R<sub>1</sub> in *Panax Notoginseng* by micellar electrokinetic chromatography. *Chin Trad Pat Med* (中成药), 2007, 29:1810-1812.

(下转第 74 页)