

中药研究

HPLC 法同时测定高冠平胶囊中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 的含量苏英英¹ 宋敏² 杨东花³ 刘峰³

(1 山海丹医院,陕西省西安市西八路 116 号,710004; 2 西安阿房宫药业有限公司; 3 陕西步长制药有限公司)

摘要 目的:建立高效液相色谱法同时测定高冠平胶囊中三七、红参所含皂苷类成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱为 HibarC₁₈(250mm×4.6mm,5 μ m);流动相 A 为乙腈,B 为水;流速为 1.0mL·min⁻¹;检测波长为 203nm;洗脱程序:0~35min,A 相为 19%,B 相为 81%;35~85min,A 相为 19%→35%,B 相为 81%→65%;85~100min,A 相为 35%→19%,B 相为 65%→81%。结果:三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 分别在 0.4104~3.2832 μ g、2.0884~16.7072 μ g、1.222~9.776 μ g、2.0072~16.0576 μ g 范围内呈良好的线性关系,其回收率分别为 98.92%、98.97%、99.01%、99.25%,RSD 分别为 1.08%、1.06%、0.85%、1.15%。结论:本方法简便、准确、重现性好,可用于高冠平胶囊的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;高冠平胶囊;三七皂苷 R_1 ;人参皂苷 R_{g1} ;人参皂苷 Re;人参皂苷 R_{b1}

Determination of Notoginsenoside R_1 , Ginsenoside R_{g1} , Ginsenoside Re and Ginsenoside R_{b1} in Gaoguanping Capsule by HPLC

Su Yingying¹, Song Min², Yang Donghua³, Liu Feng²

(1 Shanhaidan Hospital, Shaanxi, Xi'an, Post code: 710004; 2 Xi'an Ah Fang Palace Pharmaceutical Co., LTD; 3 Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., LTD)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for determination of Saponins of Notoginseng Radix et Rhizoma and Ginseng Radix et Rhizoma Rubra in Gaoguanping capsules. **Methods:** The HPLC was performed on Hibar C18(250mm×4.6mm), acetonitrile as mobile phase A, water as mobile phase B. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 203 nm. Gradient elution: 0~35 min, A: 19%, B: 81%; 35~85 min, A: 19%→35%, B: 81%→65%; 85~100min, A: 35%→19%, B: 65%→81%. **Results:** The linear range of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} , ginsenoside Re and ginsenoside R_{b1} was 0.4104~3.2832 μ g, 2.0884~16.7072 μ g, 1.222~9.776 μ g, 2.0072~16.0576 μ g with good correlation. The average recovery was 98.92%, 98.97%, 99.01%, 99.25%, RSD was 1.08%, 1.06%, 0.85%, 1.15%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for quality control of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} , ginsenoside Re and ginsenoside R_{b1} in Gaoguanping capsules.

Key Words HPLC; Gaoguanping capsules; Notoginsenoside R_1 ; Ginsenoside R_{g1} ; Ginsenoside Re; Ginsenoside R_{b1}

高冠平胶囊是由白芍、红参、丹参、三七、灵芝、蒲黄等 19 味药材提取加工制成的医院制剂,具有益气养血,活血化瘀、通络潜阳的功效,主要用于治疗冠心病、高血压病及高血压性心脏病^[1~3]。红参和三七既是方中的主药,又为贵重药材,有效成分均为皂苷类成分,我们按《中华人民共和国药典》2010 年版规定的红参、三七药材的含量测定指标,建立了高效液相色谱法同时测定高冠平胶囊中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 含量的方法,用于控制本制剂的质量,确保临床疗效。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Ultimate3000 高效液相色谱仪(戴安公

司);AR₁140 电子天平(梅特勒-托利多);MPT-1-10 高纯水机(北京子涵);KQ-250TB 超声波清洗器(昆山超声)。

表 1 梯度洗脱曲线

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~35	19	81
35~85	19→35	81→65
85~100	35→19	65→81

1.2 试药 三七皂苷 R_1 对照品(批号 110745-200318,供含量测定用)、人参皂苷 R_{g1} (批号 110703-200415,供含量测定用)、人参皂苷 Re(批号 0754-200013,供含量测定用)和人参皂苷 R_{b1} 对照品(批号 110704-200420,供含量测定用),购于中国食品药品检定研究院。高冠平胶囊(批号 20091201、20100108、

20100201, 山海丹医院提供)。水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱: HibarC₁₈ (250mm×4.6mm, 5μm); 流动相: 以乙腈为流动相 A, 水为流动相 B, 按表 1 进行梯度洗脱; 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 203nm; 柱温: 30℃; 进样量: 20μL; 理论板数按三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 峰计算均不低于 6000。

2.2 溶液的制备

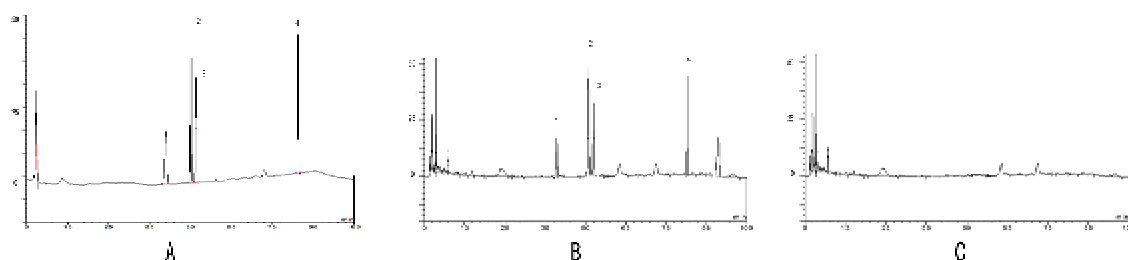
2.2.1 对照品溶液的制备 取三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1mL 含三七皂苷 R₁ 0.1mg、人参皂苷 Rg₁ 0.5mg、人参皂苷 Re 0.3mg、人参皂苷 Rb₁ 0.5mg 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物, 研细, 取约 8g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250Hz, 频率 40kHz)

40min, 提取液放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 50mL 溶解, 用三氯甲烷 50mL 提取, 弃去三氯甲烷层, 水液用水饱和的正丁醇振荡提取 3 次, 每次 50mL, 合并正丁醇液, 用氨试液 150mL 洗涤, 弃去氨试液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 按处方比例准确称取处方中除红参和三七以外的其他各味药材, 模拟本品的制备工艺和供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照品溶液。

2.3 干扰试验 按 2.1 项下色谱条件分别吸取对照品、供试品、阴性对照品溶液各 20μL 进行测定, 绘制色谱图 (见图 1)。结果在相同保留时间对照品与供试品溶液均出现色谱峰, 而阴性对照品溶液在相应位置无色谱峰, 表明其他化学成分对含量测定结果无干扰, 方法具有专属性。



A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照品溶液;

1. 三七皂苷 R₁ 2. 人参皂苷 Rg₁ 3. 人参皂苷 Re 4. 人参皂苷 Rb₁

图 1 高冠平胶囊 HPLC 色谱图

2.4 线性关系考察 分别精密吸取三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 对照品的混合溶液 2、4、8、16、24、32μL 注入液相色谱仪, 测定其峰面积。分别以三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 的进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 2。表明线性关系良好。

表 2 线性关系考察结果

名称	回归方程	线性范围 (μg)	相关系数
三七皂苷 R ₁	Y = 311295X - 9413	0.4104 ~ 3.2832	0.9992
人参皂苷 Rg ₁	Y = 413295X - 3958	2.0884 ~ 16.7072	0.9996
人参皂苷 Re	Y = 470805X + 607	1.222 ~ 9.776	0.9995
人参皂苷 Rb ₁	Y = 411305X - 5531	2.0072 ~ 16.0576	0.9994

2.5 精密度试验 取分别含三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 对照品 0.1026mg/mL、0.5221mg/mL、0.3055mg/mL、0.5018mg/mL 的混合对照品溶液, 重复进样 5 次, 测定其峰面积, RSD 分

别为 0.641%、0.486%、0.796%、0.957% (n = 5), 表明本方法精密度良好。

2.6 稳定性实验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 和 24h 按 2.1 项下色谱条件测定其峰面积。结果 RSD 为 0.116%、0.853%、0.674%、1.055% (n = 8), 表明供试品溶液在 24h 内稳定。

2.7 重复性实验 取同一批样品 (批号 20091201), 按 2.2.2 项下供试品溶液制备方法平行制备 6 份, 按 2.1 项下色谱条件测定, 含量分别为三七皂苷 R₁ 0.026mg/g、人参皂苷 Rg₁ 0.368mg/g、人参皂苷 Re 0.124mg/g、人参皂苷 Rb₁ 0.220mg/g, RSD 分别为 0.544%、0.792%、0.359%、0.959% (n = 6), 表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率实验 精密称取已知含量的样品 (批号 20091201) 4g, 分别加入一定量的三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 对照品,

按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样分析,计算回收率,结果见表 3、表 4、表 5、表 6。

表 3 三七皂苷 R_1 回收率试验 ($n=6$)

取样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.9906	0.1038	0.0832	0.1857	98.49	98.92	1.08
4.0121	0.1043	0.0832	0.1855	97.57		
4.0507	0.1053	0.1040	0.2073	98.06		
4.0082	0.1042	0.1040	0.2082	99.99		
3.9959	0.1039	0.1248	0.2290	100.25		
4.0187	0.1045	0.1248	0.2282	99.13		

表 4 人参皂苷 R_{g1} 回收率试验 ($n=6$)

取样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.9906	1.4685	1.1779	2.6477	100.11	98.97	1.06
4.0121	1.4765	1.1779	2.6516	99.77		
4.0507	1.4907	1.4718	2.9229	97.31		
4.0082	1.4750	1.4718	2.9408	99.59		
3.9959	1.4705	1.7663	3.2101	98.49		
4.0187	1.4789	1.7663	3.2200	98.57		

表 5 人参皂苷 Re 回收率试验 ($n=6$)

取样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.9906	0.4948	0.3969	0.8900	99.56	99.01	0.849
4.0121	0.4975	0.3969	0.8920	99.40		
4.0507	0.5023	0.4961	0.9860	97.50		
4.0082	0.4970	0.4961	0.9858	98.53		
3.9959	0.4955	0.5951	1.0877	99.51		
4.0187	0.4983	0.5951	1.0909	99.58		

表 6 人参皂苷 R_{b1} 回收率试验 ($n=6$)

取样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.9906	0.8779	0.7040	1.3984	100.92	99.25	1.15
4.0121	0.8827	0.7040	1.3939	98.19		
4.0507	0.8912	0.8802	1.7544	98.07		
4.0082	0.8818	0.8802	1.7520	98.86		
3.9959	0.8791	1.0558	2.0999	100.28		
4.0187	0.8841	1.0558	2.1011	99.17		

2.9 样品含量测定 取 3 批样品按 2.2.2 项下供试品溶液制备方法,制成供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,测得样品中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 的含量,结果见表 7。

表 7 样品中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 的含量测定结果 (mg/g, $n=3$)

批号	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R_{b1}
20091201	0.026	0.368	0.124	0.220
20100108	0.024	0.367	0.123	0.218
20100201	0.027	0.365	0.126	0.221

3 讨论

高冠平胶囊处方组成中红参和三七是主药,本文参照《中华人民共和国药典》^[4]2010 年版一部中红参和三七【含量测定】项下的色谱条件,并根据文献^[4-8]报道,对流动相梯度洗脱方法和供试品溶液的制备方法进行了优选研究,实现了采用高效液相色谱法同时测定高冠平胶囊中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re 和人参皂苷 R_{b1} 的含量,方法简便、准确、重现性好,可用于高冠平胶囊的质量控制。但本文仅对红参和三七《中华人民共和国药典》2010 年版一部中规定的四个指标成分三七皂苷 R_1 及共有成分人参皂苷 R_{g1} 、Re、 R_{b1} 建立了含量测定方法,其他独有的皂苷类成分,如三七含有的三七皂苷 R_2 、 R_4 、 R_6 、Fa,红参中的人参皂苷 R_{b2} 、 R_f 等的含量控制方法有待进一步研究。

参考文献

- [1] 黑卫可. 高冠平胶囊治疗冠心病合并高血压 56 例[J]. 陕西中医, 2007,28(5):550-551.
- [2] 高琦,邵建明. 高冠平胶囊治疗高血压病合并左心室肥厚 56 例[J]. 临床和实验医学杂志,2006,5(8):1225-551.
- [3] 徐爱云,沈成义,曹永孝,等. 山海丹 V 号(高冠平胶囊)对犬血流动力学的影响[J]. 中医杂志,1996,37(1):45-46.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社,2010:11,143.
- [5] 蒲艳春,徐艳丽,崔静茹. HPLC 同时测定乳癖消颗粒中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的含量[J]. 中国现代应用药学, 2010,27(11):1028-1030.
- [6] 武国顺,丁艳芬,杨冬,等. HPLC 测定调经养颜胶囊中人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 、三七皂苷 R_1 的含量[J]. 中成药,2006,28(12):1734-1736.
- [7] 吴和珍,李婷婷,李菁,等. 高效液相色谱法测定益智宁颗粒中人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 Re、人参皂苷 R_{b1} 含量[J]. 湖北中医药大学学报,2012,14(2):25-27.
- [8] 何耀慧,林荣峰,陈剑平,等. 人参、三七在复方芪术调经散中的高效液相色谱法鉴别[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(5):468-470.

(2012-08-06 收稿)