

三七胶囊含量测定方法的改进

何选林, 王群英

(湖南省永州市药品检验所 湖南 永州 425100)

关键词:三七胶囊;三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 Rb_1 、 Re 、 Rg_1 ; HPLC

摘要:目的:建立三七胶囊有效成分的高效液相色谱测定方法。方法:采用 Ultimate XB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相:乙腈-水梯度洗脱;流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 203 nm。结果:三七皂苷 R_1 和人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 在测定范围内具有良好的线性,方法的回收率在 98.61% ~ 99.35%。结论:本测定方法简单易行,重复性好,可用于生产厂家控制生产质量。

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1001-1528(2011)03-0461-03

Improvement in the determination of Notoginsenoside Capsule

HE Xuan-lin, WANG Qun-yin

(Institute for Drug Control of Yongzhou City, Yongzhou 425100, China)

KEY WORDS: Notoginsenoside Capsule; notoginsenoside R_1 ; ginsenoside Rg_1 ; ginsenoside Re ; ginsenoside Rb_1 ; HPLC

ABSTRACT: **AIM:** To establish the method for determining effective components in Notoginsenoside Capsule by HPLC. **METHODS:** The Ultimate XB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used and the detection wavelength was at 203 nm. The mobile phase was acetonitrile-water. The flow rate was 1.0 mL/min. **RESULTS:** The linear ranges of notoginsenoside R_1 , ginsenoside Rg_1 , ginsenoside Re , ginsenoside Rb_1 were good. Their average recoveries ($n=6$) were 98.61% - 99.35%. **CONCLUSION:** The method is simple, rapid, reliable and can be used for the drug control.

三七胶囊由三七细粉制成的胶囊,具有散瘀止血、消肿定痛,用于咯血、吐血、衄血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌扑肿痛,原发性血小板减少性紫癜^[1]。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 是三七的主要活性成分^[2]。关于三七胶囊的含量测定只测定人参皂苷 Rg_1 ^[3]。本试验采用高效液相色谱法同时测定三七胶囊中三七皂苷 R_1 及人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 含量^[4-8],为该产品质量控制提供方法依据和参考。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱系统 1525 泵, 2996 紫外检测器(美国),Empowers 工作站。三七皂苷 R_1 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110745-200415),人参皂苷 Rg_1 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110703-200726),人参皂苷 Re 对照品

(中国药品生物制品检定所,批号 110754-200822),人参皂苷 Rb_1 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110704-200921),三七胶囊样品(规格 0.3 g/粒,A 公司生产批号为 090301、090501、100201,3 批产品);乙腈为色谱纯、重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水为流动相,按表 1 进行梯度洗脱,检测波长为 203 nm;柱温:室温,进样量:10 μL^[9-11]。

在该色谱条件下,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 的保留时间分别为 32.8 min、36.5 min、37.2 min、61.5 min,理论塔板数分别为 1.2×10^5 、 1.2×10^5 、 1.5×10^5 、 5.0×10^5 ,人参皂苷 Rg_1 与 Re 分离度为 1.9,见图 1。

收稿日期:2010-08-16

作者简介:何选林(1973-),男,副主任药师,主要从事药品检验。Tel:13973473639 E-mail:wqy197603@163.com

表1
Tab. 1 梯度洗脱程序
Gradient elution

时间/min	乙腈/%	水/%
0~12	19	81
12~60	19→36	81→64
60~70	36→19	64→81
70~75	19	81

2.2 对照品溶液贮备液和对照品溶液的制备 精密称取三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 对照品分别为 5.32 mg、20.10 mg、5.42 mg、20.11 mg 置 25 mL 量瓶中,用甲醇适量振摇使溶解,并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品贮备液。再精密吸取贮备液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 0.6 g,置 50 mL 量瓶中,加甲醇 40 mL,超声 30 min,放冷后,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备 取溶剂作为阴性对照溶液。

2.5 线性关系考察 精密量取混合对照品贮备液 1、2、3、5、10 mL 溶液分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,注入液相色谱仪,记录色谱图,以浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),求回归方程,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的回归方程和相关系数分别为:
 $Y = 165.8 + 259.122.1X, r = 0.99996$;
 $Y = 1804.7 + 1441.035.6X, r = 0.99992$;

$Y = 147.1 + 218.035.3X, r = 0.99990$;
 $Y = 685.16 + 842.120.8X, r = 0.99996$ 结果表明,当进样量为 10 μ L 时,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_e 在 20~200 μ g/mL,人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 在 80~800 μ g/mL 浓度范围内,呈良好的线性关系。

2.6 精密度考察 取 2.2 项下的溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,记录连续 5 次的峰面积,三七皂苷 R_1 :RSD = 0.60%;人参皂苷 R_{g_1} :RSD = 0.35%;人参皂苷 R_e :RSD = 0.95%;人参皂苷 R_{b_1} :RSD = 0.77%。

2.7 重复性试验 取 2.11 项下一份样品测定 5 次,含三七皂苷 R_1 为 0.81% (RSD = 1.06%);人参皂苷 R_{g_1} 为 3.27% (RSD = 1.18%);人参皂苷 R_e 为 1.07% (RSD = 1.48%);人参皂苷 R_{b_1} 为 3.10% (RSD = 0.80%);结果表明重复性好。

2.8 稳定性试验 取同份样品分别在 0、4、8、12、16 h 测定三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 的含量,含三七皂苷 R_1 为 0.80% (RSD = 1.10%);人参皂苷 R_{g_1} 为 3.29% (RSD = 1.15%);人参皂苷 R_e 为 1.06% (RSD = 1.38%);人参皂苷 R_{b_1} 为 3.15% (RSD = 0.84%);结果表明稳定性好。

2.9 阴性对照试验 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液按本文条件进样为 10 μ L,色谱图见图 1,在本文条件下阴性对照无干扰。

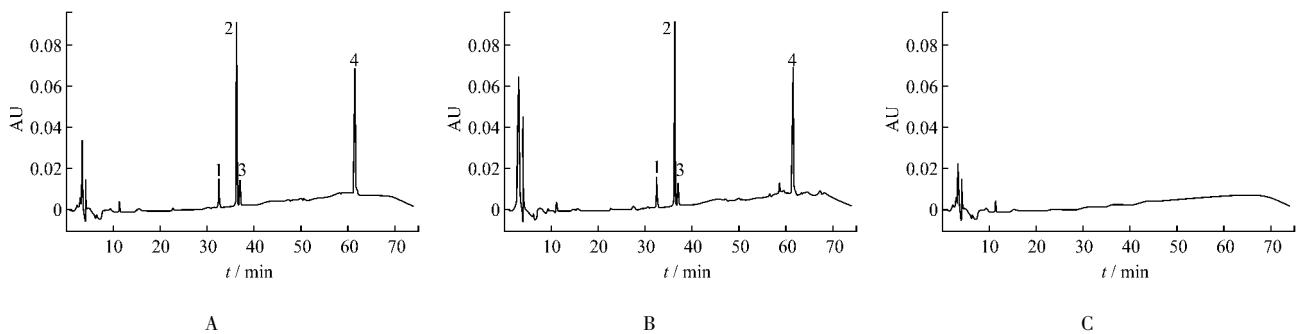


图1 高效液相色谱

Fig.1 HPLC chromatograms

A. 对照品 B. 供试品 C. 阴性对照

1. 三七皂苷 R_1 2. 人参皂苷 R_{g_1} 3. 人参皂苷 R_e 4. 人参皂苷 R_{b_1}

2.10 回收率试验 精密取已知含量的同一批样品 6 份,分别精密加入三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 对照品适量,按样品测定项下制备供回收用的溶液,依法测定即得回收率,结果见表 2。

2.11 含量测定 分别吸取 2.3 项下供试品溶液与 2.2 项下对照品溶液各 10 μ L,照 2.1 项的色谱条件,记录色谱图见 A、B,按外标法以峰面积计算,含量结果见表 3。

表2
Tab. 2 加样回收率测定结果
Results of recovery test

成分	样品量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
三七皂苷 R ₁	0.126 1	1.021	1.015	2.040	99.76	99.35	0.46
	0.127 4	1.032	1.020	2.050	98.65		
	0.126 3	1.023	1.010	2.035	98.92		
	0.127 0	1.029	1.040	2.056	99.83		
	0.125 4	1.016	1.029	2.029	99.73		
	0.128 2	1.038	1.010	2.068	99.19		
人参皂苷 R _{g₁}	0.126 1	4.123	4.020	8.104	99.02	98.72	0.76
	0.127 4	4.166	4.012	8.152	99.35		
	0.126 3	4.130	4.003	8.035	97.55		
	0.127 0	4.153	4.019	8.156	99.60		
	0.125 4	4.101	4.016	8.029	97.82		
	0.128 2	4.192	4.018	8.168	98.95		
人参皂苷 Re	0.126 1	1.349	1.302	2.040	100.21	98.61	1.04
	0.127 4	1.363	1.312	2.050	98.23		
	0.126 3	1.351	1.315	2.035	99.89		
	0.127 0	1.359	1.324	2.056	97.97		
	0.125 4	1.342	1.337	2.029	97.77		
	0.128 2	1.372	1.318	2.068	97.519		
人参皂苷 R _{b₁}	0.126 1	3.909	4.002	7.904	99.82	98.79	0.86
	0.127 4	3.949	4.007	7.952	99.89		
	0.126 3	3.915	3.987	7.805	97.56		
	0.127 0	3.937	3.924	7.816	98.85		
	0.125 4	3.887	3.997	7.813	98.21		
	0.128 2	3.974	3.993	7.903	98.39		

表3
Tab. 3 样品的含量测定结果(n=3)
Result of sample determination(n=3)

NO.	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 R _{g₁}	人参皂苷 Re	人参皂苷 R _{b₁}
	/%	/%	/%	/%
090301	0.81	3.27	1.07	3.10
090501	0.84	3.11	1.21	3.21
100201	0.78	3.81	1.18	3.01

3 讨论

3.1 三七胶囊由三七纯中药制成,但三七成分复杂未知,本实验选取的梯度系统,能够满足系统适应性并保证各成分分离的重现性,可对三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁}、Re、R_{b₁} 同时准确定量,能有效地监控三七胶囊的内在质量。

3.2 在处理样品时,曾参考《中国药典》三七的含量测定的处理方法,但从实验结果发现,三七中4种成分的含量偏低,本试验样品直接用甲醇超声处理,样品中4种指标成分 HPLC 达到基线分离。

参考文献:

[1] 新药转正标准第22册[S].2002:646.

[2] 王雁,毕开顺.三七 HPLC 指纹图谱的建立[J].中国中药杂志,2003,28(4):316-320.

[3] 国家中成药标准汇编内科气血津液分册[S].2002:19.

[4] 中国药典[S].一部.2010:11.

[5] 冯中,李晓燕,刘波,等. HPLC 测定不同厂家复方丹参片中三七皂苷 R₁ 和人参皂苷 R_{g₁}、Re、R_{b₁} 的含量[J].中成药,2009,31(1):71-74.

[6] 柯金虎,孙玉琴,马妮,等. HPLC 法测定三七保肝胶囊中皂苷的含量[J].中国科技杂志,2004,(3):40-42.

[7] 粟晓黎,王宝琴.三七及复方丹参片含量测定方法的研究[J].中成药,1990,12(3):10.

[8] 邱峰,孙毅坤,管庆霞,等.高效液相色谱法测定复方丹参片中三七皂苷 R₁ 的含量[J].中国中药杂志,1996,21(11):672.

[9] 何夏秋,杨蕾,贺建华,等.用 HPLC 法测定三七及益尿通胶囊中人参皂苷 R_{g₁} 的含量[J].中国中药杂志,2001,26(1):37.

[10] 王强,江英桥,马世平,等.高效液相色谱法测定三七中三七皂苷 R₁ 的含量[J].中国中药杂志,2000,25(10):617.

[11] 权丽辉,赵淑平,薛岚,等. HPLC 测定鑫森脑泰粉剂剂中三七皂苷 R₁ 的含量[J].中草药,2001,32(6):502.