

高效液相色谱法测定益气通脉胶囊中三七总皂苷的含量

汤祖华

泰兴市疾病预防控制中心 江苏 泰州 225400

【摘要】目的：建立高效液相色谱法测定益气通脉胶囊中三七总皂苷的含量方法。方法：采用高效液相色谱法，CAPCELL PAK MG II C18 column (250×4.6mm, 3.5 μ m)，乙腈(A)-水(B)进行梯度洗脱：0min~10min, 20%A；10min~23min 20%A~22%A；23min~30min, 22%A；30min~59min, 22%A~31%A；59min~67min, 31%A, 67min~82min, 31%A~40%A；82min~87min, 40%A~20%A；87min~93min, 20%A；该检测的波长设定为230nm, 流速选择为1.0mL·min⁻¹；在30℃柱温条件下进行实验。结果：人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg1、三七总皂苷中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rb1 分别在 13.64~436.6 μ g·mL⁻¹、95.51~3056.2 μ g·mL⁻¹、23.47~750.96 μ g·mL⁻¹、78.59~2514.84 μ g·mL⁻¹ 范围内线性关系良好，平均回收率分别为 104.90%、96.31%、93.59%和 96.39%。结论：该方法准确、可靠，重复性好，可用于益气通脉胶囊中人参皂苷的质量评价与控制标准。

【关键词】：益气通脉胶囊；高效液相色谱法；人参皂苷

DOI:10.12417/2705-098X.26.05.067

益气通脉胶囊是临床经验方，组方包含西洋参、三七、黄精、川芎、赤芍等八味中药材，具有益气养阴、活血通脉之功效，临床上常用于改善气阴不足兼血瘀证引发的头昏、头晕、胸闷、胸痛等症状。然而，该方剂目前缺乏明确且详尽的含量测定质量标准。鉴于此，本研究在查阅相关文献、参照《中国药典》标准的基础上，经反复试验摸索，建立了 HPLC 测定方法，对制剂中西洋参、三七中的三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb1 进行含量检测，旨在为该制剂的质量控制提供科学依据。

1 仪器与材料

Thermo Ultimate 液相色谱仪, XS204 电子天平; CAPCELL PAK MG II 色谱柱, DK-S24 电热恒温水浴锅, MJF-300 超声脱气机, 微量移液器。三七总皂苷对照品(中检院)批号: 110870-201904)。选用益气通脉胶囊, 胶囊规格为 10 粒/板, 3 板/盒, 0.3 g/粒, 本次实验采用的生产批号分别为 211007、211011、211014, 甲醇(色谱纯), 乙腈(色谱纯), 实验室自制纯化水, 其他未说明的试剂都为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 CAPCELL PAKMG II 色谱柱 (250×4.6mm, 3.5 μ m); 乙腈(A)-水(B)组成流动相进行梯度洗脱: 0min~10min, 20%A; 10min~23min 20%A~22%A; 23min~30min, 22%A; 30min~59min, 22%A~31%A; 59min~67min, 31%A, 67min~82min, 31%A~40%A; 82min~87min, 40%A~20%A; 87min~93min, 20%A; 流速: 1.0mL·min⁻¹; 柱温 30℃; 进样量: 10 μ L; 检测波长: 230 nm。

2.2 样品的制备

2.2.1 对照品溶液的制备

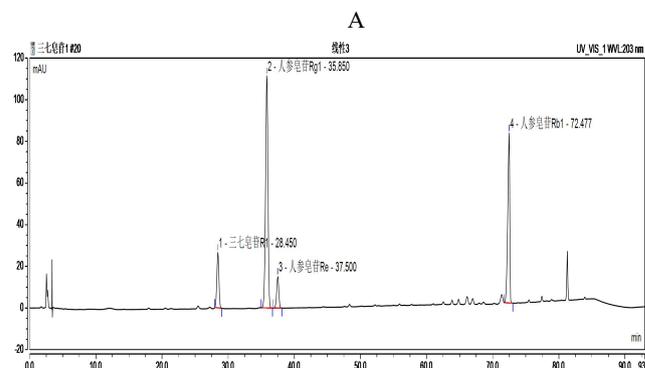
称取适量三七总皂苷对照品放入 100ml 称量瓶中, 进行精密称定, 加入甲醇将样品溶解后进行定容, 制备对照品三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 浓度分别为 750.96 μ g·mL⁻¹、3056.20 μ g·mL⁻¹、436.60 μ g·mL⁻¹、2514.84 μ g·mL⁻¹, 放置于实验台备用。

2.2.2 供试品溶液的制备

取上述样品的内容物, 先将样品研细, 然后进行混匀, 称取 0.5g, 放入锥形瓶中并盖好胶塞, 把 25mL 甲醇加入其中, 进行质量测定, 之后放置 1h, 在 80℃水浴条件下进行 2h 回流操作后放冷, 最后重新加入甲醇补足因回流损失的样品质量, 经摇匀、过滤等操作后取续滤液, 即制得实验样品。

2.3 方法专属性

按“2.1 色谱条件”进样分析, 得到对照品和益气通脉胶囊的 HPLC 色谱图, 如图 1 所示。结果显示三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 的分离度良好。



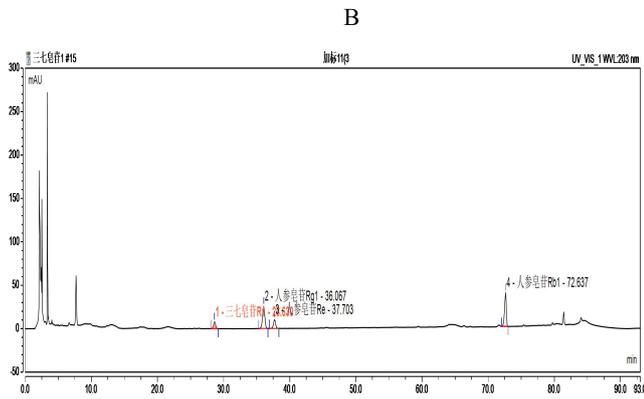


图1 益气通脉胶囊及对照品色谱图

(A.对照品; B.益气通脉胶囊; 1.三七皂苷 R1; 2.人参皂苷 Rg1; 3.人参皂苷 Re; 4.人参皂苷 Rb1)

Fig.1 HPLC chromatograms of Yiqi Tongmai capsules and reference substance

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1 对照品溶液的制备”的对照品溶液适量, 加甲醇分别制成三七皂苷 R1 浓度为 750.96、375.48、187.74、93.87、46.94、23.47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 Rg1 浓度为 3056.20、1528.10、764.05、382.03、191.01、95.51 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 Re 浓度为 436.6、218.3、109.15、54.58、27.29、13.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 Rb1 浓度为 2514.84、1257.42、628.71、314.36、157.18、78.59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。按“2.1 色谱条件”进样分析, 记录峰面积, 以峰面积 (Y) 对对照品溶液浓度 (X) 采用线性回归计算, 结果表明, 三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 分别在 23.47~750.96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、95.51~3056.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、13.64~436.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、78.59~2514.84 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 其回归方程分别为 $Y=0.0518X+0.0075$ ($R=1.0000$)、 $Y=0.0597X+0.8483$ ($R=1.0000$)、 $Y=0.0505X+0.0502$ ($R=0.9998$) 和 $Y=0.0441X+0.2641$ ($R=1.0000$)。

2.5 精密度试验

吸取 10 μL 对照品溶液, 进行连续 6 次进样, 根据所得峰面积判定结果, 观察发现三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 峰面积的 RSD 分别为 1.02%、0.99%、1.18%、0.97%, 上述结果说明所采用的仪器具有良好的精密度。

2.6 重复性试验

称取益气通脉胶囊 (211007 批) 6 份 (每份 0.5g), 精密称定, 按“2.2.2 供试品溶液的制备”制备供试品溶液, 按“2.1 色谱条件”进样 6 次分析, 记录三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 的峰面积并计算含量 RSD。结果显示三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 在益气通脉胶囊中的含量的 RSD 分别为 1.69%、1.33%、1.53%、1.24%、1.03%, 均小于 2%, 上述检验结果证明本实验方法可

以得到良好的重复性。

2.7 稳定性试验

精密吸取 10 μL 同一供试品溶液, 按照之前实验步骤进行测定, 记录 5 种的峰面积, 结果显示三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 的峰面积 RSD 分别为 1.53%、1.66%、1.38%、1.06%, 均小于 2%, 结果显示在 48h 内供试品溶液稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

称取 6 份益气通脉胶囊 (211007 批), 每份 0.25g, 精密加入 0.2 mL 含三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 1983、4055、3566、3787 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 之后加入甲醇 24.8 mL, 按制备供试品溶液制备方法进行制备, 在高效液相色谱中按条件进行检测, 表 1 呈现了测试结果。

表 1 加样回收率结果

Tab.1 The result of recovery test

成分	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	人参皂苷
	R1	Rg1	Re	Rb1
平均回收率/%	104.90	96.31	93.59	96.39
(RSD/%)	1.8	1.5	1.7	1.8

2.9 样品测定

称取 (211007、211011、211014) 3 个批次的益气通脉胶囊各 0.5g, 精密称定, 进行供试品溶液的制备, 按前述色谱实验条件进行检测分析。分别记录各组分的峰面积, 将计算结果计入表 2。

表 2 各成分的含量测定

Tab.2 Results of content determination of various constituents(n=3)

	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	人参皂苷
	R1	Rg1	Re	Rg1
平均含量 /mg·粒 ⁻¹	1.0562	3.4687	1.4318	5.5095
RSD/%	0.18	0.14	0.32	0.14

3 讨论

本研究参考 2020 年版《中国药典》进行 HPLC 条件筛选, 通过对比样品放置过夜后回流提取与静置 1h 再回流提取的效果, 发现两种处理方式无显著差异, 最终确定提取工艺为: 样品取样后加入甲醇静置 1h, 再于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下回流提取 2h, 该方法能实现供试品溶液的充分提取, 且操作简便易行。

在色谱条件优化过程中, 以色谱峰出峰数量及相邻对照品色谱峰的分度度为核心评价指标, 对色谱柱、柱温、流动相组成、梯度洗脱程序及检测波长等关键参数进行系统优化, 最终

确定采用“2.2.1”项下所述色谱条件，建立了测定益气通脉胶囊中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rb1 含量的高效液相色谱法。

实验结果显示，益气通脉胶囊中三七皂苷 R1、人参皂苷

Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 的含量分别为 $1.0562 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ 、 $3.4687 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ 、 $1.4318 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ 、 $5.5095 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ 。该方法具有快速、准确、重复性良好的特点，可作为益气通脉胶囊质量控制及标准制定的有效依据。

参考文献:

- [1] 孟淑智.消栓通颗粒的质量控制研究[C]//2009年中国药学会大会暨第九届中国药师周论文集.长沙:中国药学会,2009:208-214.
- [2] 孟淑智.消栓通颗粒的质量控制研究[C]//2010年中国药学会大会暨第十届中国药师周论文集.天津:中国药学会,2010:1265-1271.
- [3] 袁海铭,吴迪.通脉降脂咀嚼片质量标准提高[J].江西化工,2015(3):86-90.
- [4] 樊莉.黄芪天麻胶囊的制备工艺及质量标准研究[D].重庆:第三军医大学,2009.
- [5] 李娜,崔翰明,李小芳.三七总皂苷脂质体微丸的制备[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(18):35-38.