

三七花颗粒的质量控制方法

Study on the Quality Control Method of Sanchi Granule

冯 军, 刘布鸣^{**}

FENG Jun, LIU Buming

(广西壮族自冶区中医药研究院, 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)
(Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:【目的】完善三七花颗粒制剂的质量控制标准。【方法】采用薄层色谱法对三七花颗粒进行定性鉴别,并用高效液相色谱法对颗粒中的人参皂苷 Rb₃ 进行定量测定。【结果】三七花颗粒供试品与对照品及药材在薄层色谱中相应的位置上,显现相同颜色的荧光斑点;人参皂苷 Rb₃ 在 0.505~5.050 μg 成良好线性关系 ($r = 0.9999$),平均回收率为 101.25%,RSD 为 0.54% ($n = 6$)。【结论】该方法简便、准确,可用于三七花颗粒质量的控制。

关键词: 高效液相色谱 薄层色谱 三七花颗粒 人参皂苷 Rb₃

中图分类号: R286 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2016)04-0276-04

Abstract:【Objective】To perfect the quality control standard of sanchi granule.【Methods】The TLC method was used to identify the sanchi granule and the HPLC method was used for the determination of ginsenoside Rb₃ in it.【Results】Each of the sanchi, sanchi granule and ginsenoside Rb₃ had a similar fluorescent spot which performed the same colour and R_f in the TLC. The calibration curve of ginsenoside Rb₃ showed a good linearity within 0.505~5.050 μg, $r = 0.9999$. The average recovery was 101.25%, RSD was 0.54% ($n = 6$).【Conclusion】The method was simple and accurate, it could be used for the quality control of Sanchi Granule.

Key words: HPLC, TLC, sanchi granule, ginsenoside Rb₃

0 引言

【研究意义】三七花为五加科植物三七 (*Panax*

notoginseng (Burk.) F. H. Chen) 的干燥花序^[1], 学名: *Panax pseudoginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng, 英文名: Sanchi。三七花颗粒是以三七花为原料制成的单方制剂。三七主要含有皂苷类、黄酮类和挥发性成分,其中三七花中皂苷类成分人参皂苷 Rb₃ 的含量比根部要高^[2],具有降血压、降血脂、护肝、抗炎、抑制细胞增殖等作用^[3-5]。【前人研究进展】目前一般采用指标性成分的定性鉴别和含量的测定对中药材及其制剂的质量进行控制。张柯媛等^[6]采用薄层色谱法和高效液相色谱法对四数九里香药材中的补骨脂素进行定性定量分析,以作为四数九里香药材的质量标准分析方法;李

收稿日期: 2016-06-10

作者简介: 冯 军(1984-),男,助理研究员,硕士,主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究。

* 广西中药质量标准研究重点实验室系统性研究课题(桂中重系 201310)和广西科学研究与技术开发项目(重大专项计划,桂科重 14124002-11)资助。

** 通信作者: 刘布鸣(1956-),男,研究员,硕士研究生导师,主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究, E-mail: liubuming@aliyun.com。

文琪等^[7]采用薄层色谱定性鉴别,并用高效液相色谱测定芒果苷含量,为光石韦药材的质量标准制定提供分析方法和依据;中国药典^[8]采用薄层色谱法和高效液相色谱法对三七片中的三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁ 进行定性定量分析,以控制制剂质量。【本研究切入点】三七花颗粒收载于中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第二册^[9],现有的质量标准中尚无定性鉴别和含量测定的相关规定项。【拟解决的关键问题】参考文献^[6-7],采用薄层色谱法和高效液相色谱法分别建立三七花颗粒的薄层色谱鉴别方法和人参皂苷 Rb₃ 的含量测定方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

美国 Agilent 1260 高效液相色谱仪(G1311C 四元梯度泵,G1329B 自动进样器,G1316A 柱温箱,DAD 检测器,OpenLAB CDS 色谱工作站),ZF-90D 暗箱式紫外分析仪(上海光豪分析仪器有限公司),HH-S 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂),KQ-5200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

人参皂苷 Rb₃ 对照品(批号:111686-201504),由中国食品药品检定研究院提供,三七花颗粒(批号:140802,140911,141018),由广西万通制药有限公司提供,三七花药材由广西万通制药有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水,其它试剂为分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 薄层色谱(TLC)鉴别

1.2.1.1 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 Rb₃ 对照品 5.05 mg,用纯甲醇溶解并定容至 10 mL 的容量瓶中,制得每毫升约含 0.505 mg 人参皂苷 Rb₃ 的对照品溶液。

1.2.1.2 供试品溶液的制备

分别称取三七花颗粒及阴性样品各约 2 g,三七花药材约 4 g,分别置于具塞锥形瓶中,加入甲醇 20 mL,超声提取 1 h,放冷,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

1.2.1.3 薄层色谱鉴别方法

在同一块 G-硅胶板上点样,点样量为 9 μL,以氯仿-甲醇-水(7:3:0.5)为展开剂,预饱和 10 min,

10%(V/V)硫酸乙醇溶液显色,105℃的烘箱中烘 5 min,紫外灯(365 nm)下检视。

1.2.2 人 参 皂 苷 Rb₃ 含 量 测 定

1.2.2.1 系统适应性试验

色谱柱为 Pursuit 5 C18 (4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸(V:V=33:67),检测波长为 203 nm,流速 1.0 mL/min,柱温为 30℃。

1.2.2.2 对照品溶液的制备

取人参皂苷 Rb₃ 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 Rb₃ 0.15 mg 的溶液即得。

1.2.2.3 供试品溶液的制备

取本品适量,研细,取约 4 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称重,超声提取 1 h,取出,放冷,用甲醇补足重量,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

1.2.2.4 线性范围的考察

先取人参皂苷 Rb₃ 对照品适量,精密称定,加甲醇使其溶解并稀释至刻度,摇匀,制成浓度为 0.505 mg/mL 的对照品母液,再分别精密量取对照品母液 8.0 mL、6.0 mL、4.0 mL、2.0 mL、1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,最后精密吸取上述对照品溶液及对照品母液各 10 μL,注入液相色谱仪进行测定。

1.2.2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪测定峰面积,重复进样 6 次,计算出人参皂苷 Rb₃ 峰面积的 RSD 值为 0.13%。

1.2.2.6 稳定性试验

取同一批供试品溶液,分别于 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h 进样,计算出人参皂苷 Rb₃ 峰面积的 RSD 为 0.42%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.2.2.7 重复性试验

取同一批样品 6 份,分别按 1.2.2.3 项方法制备供试品溶液,测定峰面积,计算人参皂苷 Rb₃ 含量,RSD 值为 0.34%。

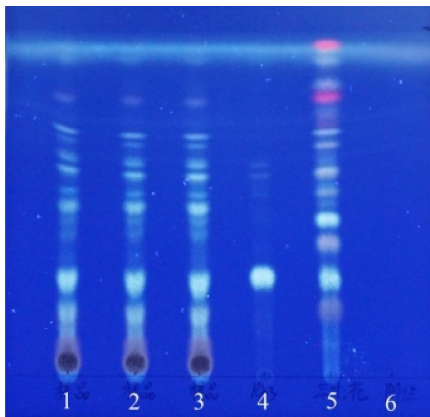
1.2.2.8 回收率试验

取已知含量的本品 6 份,每份约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入 0.91 mg/mL 的人参皂苷 Rb₃ 对照品溶液 5 mL,再分别精密加入甲醇 45 mL,自称重,超声提取 1 h 后参考 1.2.2.3 项供试品溶液的制备方法制备供试品溶液。

2 结果与分析

2.1 薄层色谱鉴别

从图1可以看出,三七花颗粒供试品与人参皂苷 Rb_3 对照品在相应位置上有相同斑点,阴性样品在人参皂苷 Rb_3 对照品相应位置上无斑点,比移值符合要求,说明薄层色谱可作为三七花颗粒的鉴别方法。



1~3:样品;4:人参皂苷 Rb_3 对照品;5:三七花;6:阴性
1~3: Sample; 4: Ginsenoside Rb_3 ; 5: Sanchi; 6: Negative sample

图1 三七花颗粒 TLC 鉴定

Fig.1 TLC of sanchi granule

2.2 人参皂苷 Rb_3 含量

2.2.1 系统适应性试验

按1.2.2.1节的色谱条件,分别吸取供试品溶液和对照品溶液并进样,理论塔板数按人参皂苷

表1 人参皂苷 Rb_3 加样回收率试验结果

Table 1 Recovery test result of ginsenoside Rb_3

序号 Number	取样重量 Sample weight(g)	样品含量 Sample content(mg)	加入重量 Standard weight(mg)	峰面积 Peak area	测得量 Test content (mg)	回收率 Rate of recovery(%)	平均回收率 Average rate of recovery (%)	RSD (%)
1	2.000 1	4.3	4.55	471.10	8.91	101.30	101.25	0.54
2	2.000 4	4.3	4.55	473.10	8.95	102.11		
3	2.0003	4.3	4.55	471.70	8.92	101.54		
4	2.000 5	4.3	4.55	470.85	8.90	101.17		
5	1.999 8	4.3	4.55	469.85	8.89	100.79		
6	2.000 2	4.3	4.55	469.40	8.88	100.59		

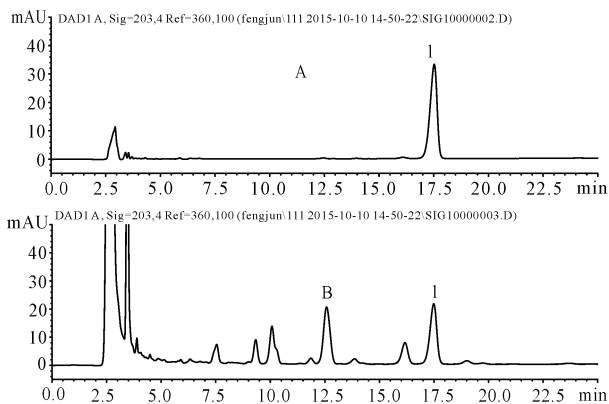
2.2.4 样品测定

按上述方法分别对3批三七花颗粒样品中的人参皂苷 Rb_3 含量进行测定,结果分别为2.15 mg/g、2.23 mg/g、1.98 mg/g。

3 结论

选择超声提取方法,并参照三七花药材标准^[1]

Rb_3 计大于7000,分离度大于1.5,结果见图2。



A:对照品 Standard; B:供试品 Sample; 1:人参皂苷 Rb_3 Ginsenoside Rb_3

图2 三七花颗粒 HPLC 分析

Fig.2 HPLC of sanchi granule

2.2.2 线性范围

以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分为纵坐标,得人参皂苷 Rb_3 对照品的回归方程: $y = 298.32931x + 2.78411$ ($r = 0.9999$)。结果表明,人参皂苷 Rb_3 进样量为0.505~5.05 μg 时,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.3 回收率试验

分别吸取1.2.2.8节中所列供试品溶液注入液相色谱仪,测定峰面积,计算回收率。表1结果显示平均回收率为101.25%,RSD值为0.54%,表明方法准确性良好。

中的鉴别项调整 TLC 展开系统比例为氯仿:甲醇:水为7:3:0.5,再对比考察了不同提取溶剂、提取时间及溶剂用量对人参皂苷 Rb_3 提取效率的影响,又参照文献^[10-12]选择色谱条件,建立了三七花颗粒的薄层色谱鉴别方法和人参皂苷 Rb_3 的含量测定方法。该方法准确、简便,可操作性强,可为提升三七花颗粒现有质量控制水平提供实验参考。

参考文献:

- [1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准:第二卷[S]. 南宁:广西科学技术出版社,2011.
Guangxi Food and Drug Administration. Quality Standard of Guangxi Zhuang Medicine; Vol. 2[S]. Nan-ning:Guangxi Science and Technology Press,2011.
- [2] 朱洁,杨蓉,张洪彬. HPLC-ELSD 法测定三七叶中人参皂苷 Rb₃、Rc、Rb₁ 的含量[J]. 中草药,2004,35(12):1365-1366.
ZHU J, YANG R, ZHANG H B. Content determination of ginsenoside Rb₃, ginsenoside Rc, ginsenoside Rb₁ in *Panax notoginseng* leaf by HPLC-ELSD[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2004,35(12):1365-1366.
- [3] 曹敏,王佑华,王福波,等. 三七花总皂苷降压作用研究[J]. 光明中医,2012,27(7):1314-1315.
CAO M, WANG Y H, WANG F B, et al. Effect study on blood pressure by *Panax notoginseng* flower saponins[J]. Guangming Journal of Chinese Medicine,2012,27(7):1314-1315.
- [4] 王彦武,赵鹏,李彬,等. 三七花含片对酒精性肝损伤保护作用的实验研究[J]. 广西医科大学学报,2005,22(1):62-63.
WANG Y W, ZHAO P, LI B, et al. The study of protective effects of sanchi tablet on alcoholic liver injury[J]. Journal of Guangxi Medical University,2005,22(1):62-63.
- [5] 苑素云,王佑华,曹敏,等. 三七花总皂苷对内皮素诱导的人主动脉血管平滑肌细胞 c-myc、c-fos 表达的影响[J]. 上海中医药大学学报,2012,26(3):95-97.
YUAN S Y, WANG Y H, CAO M, et al. Influence of *Panax notoginseng* flower saponins on c-myc and c-fos expressions in ET-1-induced human aortic vascular smooth muscle cells[J]. Acta Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai,2012,26(3):95-97.
- [6] 张柯媛,黄艳,刘布鸣,等. 四数九里香药材中补骨脂素的定性定量分析方法研究[J]. 广西科学,2012,19(4):352-354.
ZHANG K Y, HUANG Y, LIU B M, et al. Qualitative and quantitative analysis of psoralen in *Murraya tetraera* Huang[J]. Guangxi Sciences,2012,19(4):352-354.
- [7] 李文琪,陈明生,温幼敏,等. 光石韦药材中芒果苷的定性定量分析方法研究[J]. 广西科学,2012,19(1):77-79.
LI W Q, CHEN M S, WEN Y M, et al. Qualitative and quantitative analysis of mangiferin in *Pyrrosia hclavata* (Bak.) Ching[J]. Guangxi Sciences,2012,19(1):77-79.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. The People's Republic of China Pharmacopoeia 2015 Edition[S]. Beijing:Chinese Medical Science and Technology Press,2015.
- [9] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂:第二册[S]. 北京:中华人民共和国卫生部药典委员会,1990.
The Ministry of Health of the People's Republic of China Pharmacopoeia Committee. The Traditional Chinese Medicine Preparation of Chinese Medicine Standard:Vol. 2[S]. Beijing:The Ministry of Health of the People's Republic of China Pharmacopoeia Committee,1990.
- [10] 魏莉,杜奕,周浩. 不同产地和生长年限三七花蕾中总皂苷及单体皂苷的含量测定[J]. 上海中医药杂志,2008,42(4):76-78.
WEI L, DU Y, ZHOU H. Content determination of total saponin and monomer saponin of *Panax notoginseng* flower bud in different habitats and growth ages[J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine,2008,42(4):76-78.
- [11] 何轶,范震洪,赵静沛,等. HPLC 测定三七花叶颗粒中人参皂苷 Rb₃ 的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(22):1894-1895.
HE Y, FAN Z H, ZHAO J P, et al. Content determination of ginsenoside Rb₃ in *Panax notoginseng* flower and leaf granule by HPLC[J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2006,31(22):1894-1895.
- [12] 赫玉芳,赵显玮,司学玲,等. HPLC 法同时测定三七花盘中人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rb₃ 的含量[J]. 中国医药科学,2015,5(5):42-44.
HE Y F, ZHAO Y W, SI X L, et al. Content determination of ginsenoside Rb₁ and ginsenoside Rb₃ in flower disc of *Panax notoginseng* by HPLC[J]. China Medicine and Pharmacy,2015,5(5):42-44.