超临界流体色谱法测定三七及云南白药中人参二醇和人参三醇的含量

李云华 李修禄 虹 岚* 刘锦耀* 张美义**

(第二军医大学药学院，上海 200433；*云南省分析测试研究所，昆明 650011；
**成都军区昆明总医院药局，昆明650032)

提要 本文用超临界流体色谱法(SFC)测定了三七和云南白药中人参二醇及人参三醇的含量，使用15%硫酸乙醇—水(1∶1)直接进行水解，然后碱水解，克服了文献报道的水解不完全、结果不稳定、不能定量回收的缺点。本法取样量少，灵敏度高，操作简单、快速、整个分析过程可在8 h内完成。

关键词 超临界流体色谱；人参二醇；人参三醇；三七；云南白药

三七(Radix notoginseng)为我国名贵中药，其主要有效成分为人参皂甙，经强酸水解得到人参二醇(panaxadiol)和人参三醇(panaxatriol)。三七及其中成药的质量控制一直是个难题，目前测定人参二醇及人参三醇的方法还存在不少问题：薄层层析的分离度不够理想并有杂质干扰；气相色谱法需要衍生化，操作复杂；高效液相色谱也需要衍生化。我们采用将样品直接强酸水解后用环己烷提取、经净化后，用超临界流体色谱法测定了三七及其中成药中人参二醇及人参三醇的含量，获得了较好的结果。

实 验 部 分

一、仪器和药品

622型SFC－GC色谱仪(美国理氏科学仪器公司)；HP 3390A色谱数据处理机；SB－Cyanopropyl－50石英毛细管交联柱10 m×50 μm，膜厚0.25 μm。

人参二醇和人参三醇对照品购自中国科学院昆明植物研究所；三七粉、云南白药由昆明43医院药局提供。胆固醇为Merck公司产品，无水乙醇、二硫化碳、氢氧化钠、硫酸、环己烷均为分析纯试剂。

二. 色谱条件

流动相为CO_2，纯度99.995%；FID检测器、检测器温度300 ℃；柱温90 ℃；分流进样、进样量0.2 μl，分流比为1/10；起始压力为10.1 MPa、程升1.01 MPa/min至35.5 MPa。记录仪参数：ZERO＝0，ATT″＝2，CHT SP＝0.4，THRSH＝4，PK WD＝0.2。

三. 水解、提取、净化条件

样品加15%硫酸乙醇—水(1:1)10 ml，精密加内标溶液(胆固醇的无水乙醇液 1 mg/ml，

本文于1990年4月17日收到。
本文为国家自然科学基金资助项目，部分内容在首届长春国际分析化学会上交流。

1 ml，水浴中回流水解 4 h，再加入 15% 氢氧化钠溶液 15 ml 至强碱性，回流 0.5 h，冷却，用环己烷提取 3 次，每次 10 ml。提取液经过 1.5 g 硅藻土—水柱[1]，除去少量乙醇及水溶性杂质，用环己烷 5 ml 洗涤水柱，然后再经过 0.3 g 硅胶 H 柱[1]保留人参二醇、人参三醇和内标等，弃去环己烷，用 3 ml 无水乙醇洗脱。

四、标准曲线的绘制

分别精密吸取人参二醇、人参三醇的无水乙醇溶液(均为 1 mg/ml)0.5，1，2，4 ml，准确加内标溶液 1 ml，加入 15% 硫酸乙醇—水(1:1) 10 ml 经上述水解、提取、净化后，挥去溶剂乙醇，用 4 ml 二硫化碳溶解，取 0.2 μl 进样 SFC 分析，分别计算人参二醇和人参三醇与内标的峰面积比，以峰面积比(Y)对相应的人参二醇或人参三醇的量(X)进行回归，回归方程为：

人参二醇：$X=1.613Y+0.029$　　$r=0.9999$

人参三醇：$X=1.538Y+0.322$　　$r=0.9992$

人参二醇或人参三醇的量(0.5～4.0 mg)与峰面积比成线性关系。

五、加样回收率

精密称取三七粉 0.1 g 或云南白药 0.5 g，加入人参二醇和人参三醇各 1 mg，同上经水解、提取、净化后，进行 SFC 分析，计算加样回收率，结果见表 1。

Tab 1. Recovery of panaxadiol, panaxatriol from Radix notoginseng and Yunnan Baiyao

Weight (g)	Panaxadiol			Panaxatriol		
	Added (mg)	Measured (mg)	Recovery (%)	Added (mg)	Measured (mg)	Recovery (%)
Radix notoginseng						
0.0985	1.000	1.024	102.4	1.000	0.956	95.6
0.1021	1.000	1.043	104.3	1.000	0.961	96.1
0.0955	1.000	1.082	108.2	1.000	0.994	99.4
$\bar{x}$			104.9			97.0
CV(%)			2.82			2.13
Yunnan Baiyao						
0.5236	1.000	0.957	95.7	1.000	0.986	98.6
0.4879	1.000	1.011	101.1	1.000	0.951	95.1
0.5124	1.000	0.961	96.1	1.000	0.996	99.6
$\bar{x}$			97.6			97.8
CV(%)			3.02			2.42

六、检测限

以信噪比为 3:1 计算，人参二醇的最小检测量是 3.97×10^{-12} g，人参三醇的最小检测量是 4.17×10^{-12} g。

七、样品分析

精密称取三七粉(80 目，昆明大观制药厂)约 0.1 g，云南白药(云南白药厂 8906－09)约 0.5 g，经上述水解、提取、净化后，挥去乙醇，用二硫化碳 4 ml 溶解，取 0.2 μl 进样 SFC 分析，计算人参二醇和人参三醇与内标的峰面积比，代入回归方程计算含量。结果：三七中含人参二醇及人参三醇分别为 1.92±2.10(CV)% 及 2.71±1.36(CV)%；云南白药中含人参二醇及人参三醇分别为 0.212±2.56(CV)% 及 0.285±2.79(CV)%。其 SFC 图见图 1。

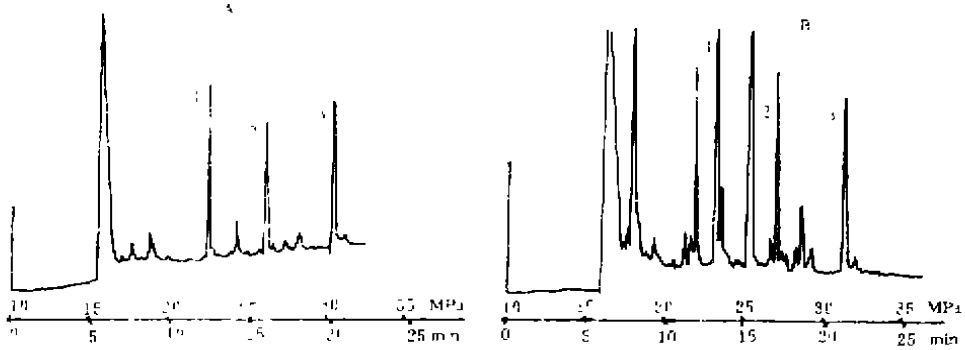

Fig. 1. Capillary supercritical fluid chromatograms of Radix notoginseng extract (A) and Yunnan Baiyao extract (B). 1. Cholesterol (internal standard). 2. Panaxadiol; 3. Panaxatriol.

讨 论

三七粉及云南白药中无干扰内标的杂质峰。

人参二醇和人参三醇在酸中加热不稳定，因此绘制标准曲线时也需要经过水解、提取等操作。

本法用强酸强碱水解较完全，测得人参二醇及人参三醇的含量较文献法[2~5]高。本法取样量少、灵敏、简便、快速、操作全过程可在 8 h 内完成，为三七及云南白药中人参皂甙元的测定提供了较好的方法，对三七资源的研究及制剂的质量控制将有促进意义。

为了减小死体积，缩小溶剂峰，超临界流体色谱多采用分流进样。由于分流比不太稳定，目前很难用计算法定量，必须用内标法。分流比不稳定可能是样品中不挥发成分沉留在分流管壁上所致。有时分流管堵塞，可用热吹风吹通。每次进样前分流管用电吹风吹 2 min，分流比相对稳定。

因 SFC 流动相在柱中的流动速度比 GC 慢，使用 FID 检测器溶剂峰较大。要使溶剂峰与组分分开，就要延长分析时间。我们将乙醇换成二硫化碳作进样溶剂，因二硫化碳在 FID 中的响应值小，溶剂峰很小，缩短了分析时间，使之在 20 min 左右完成，可以作为常规分析。使用 FID 检测器，对中药及中成药中的有机成分有很高的检测灵敏度，不仅可以测定中成药中已知的有效成分，还可以测出未知成分作指纹鉴别，如云南白药的 SFC 图。因此 SFC 作中成药的质量控制是较好的手段，有很大发展潜力。

参 考 文 献

1. 李云华、李修禄. 用高效液相色谱法测定冬虫夏草及虫草乌鸡丸中麦角甾醇的含量. 药学学报 1991; 26: 768

2. 章观德, 等. 人参的分析 II. 人参皂甙的测定. 药学学报 1980, 15: 175.

3. 李向高、藤芬婷. 人参有效成分研究(二). 人参不同药用部位所含皂甙及皂甙元的比较. 中成药研究 1978; 4: 6.

4. Samwatari Y. et al. Thin-layer chromatographic determination of panaxadiol and panaxatriol by ultraviolet derivatization. *Chem Pharm Bull* 1979, 27: 147.

5. Brieskorn CH and Mosand A. Quantitative gas chromatography of panaxadiol and panaxatriol: qualitative evaluation of ginseng root and its preparation. *Pharm Sci* 1978, 46: 106.

DETERMINATION OF PANAXADIOL AND PANAXATRIOL IN RADIX NOTOGINSENG AND YUNNAN BAIYAO BY CAPILLARY SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY

YH Li, XL Li, L Hong*, JY Liu* and MY Zhang**

(*School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433; * Analytical and Testing Research Institute of Yunnan, Kunming 650011; **Pharmacy, 43th Hospital, Kunming 650032*)

ABSTRACT Capillary supercritical fluid chromatography (SFC) was developed for the determination of panaxadiol and panaxatriol in Radix notoginseng and Yunnan Baiyao. 0.1 g Radix notoginseng powder or 0.5 g Yunnan Baiyao was mixed with 10 ml 15% H_2SO_4 ethanol – water (1:1) solution, adding 1 mg cholesterol as internal standard. The mixture was refluxed for 4 h, then adding 15 ml 15% NaOH solution, refluxed for 0.5 h. The mixture was extracted 3 times with 10 ml portions of cyclohexane. The cyclohexane extracts were purified by partition column and concentrated by adsorption column and then analysed by SFC. The proposed method is sensitive, accurate, precise, simple and rapid; all the process can be done in 8 h.

Keys words Supercritical fluid chromatography; Panaxadiol; Panaxatriol, Radix notoginseng; Yunnan Baiyao