

## HPLC-ELSD法测定瓜子金中瓜子金皂苷己的含量

焦晴晴<sup>1</sup>,汪维云<sup>1</sup>,苏娟<sup>2</sup>,张卫东<sup>2</sup> (1.安徽农业大学生命科学学院,安徽 合肥 230036; 2.第二军医大学药学院天然药物化学教研室,上海 200433)

**[摘要]** 目的 建立测定瓜子金皂苷己含量的方法,为瓜子金药材质量控制提供依据。方法 采用 HPLC-ELSD法;色谱柱:SHISEDO Capcell Pak C<sub>18</sub>柱;流动相:乙腈-水(30:70),等度洗脱;流速:1.0 ml/min;柱温:25℃;检测器:蒸发光散射检测器。结果 瓜子金中瓜子金皂苷己获得良好分离,在 0.346~3.460 μg范围内呈现良好线性关系;精密度的 RSD为 1.64%;重现性 RSD为 2.12%;加样回收率为 99.85%。结论 建立了 HPLC-ELSD法测定瓜子金皂苷己的含量,方法简单可行。

**[关键词]** 瓜子金皂苷己;高效液相色谱;蒸发光散射检测器

**[中图分类号]** R927.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)02-0137-03

## Determination of polygalasaponin F in *Polygala japonica* by HPLC-ELSD method

JIAO Qing-qing<sup>1</sup>, WANG Wei-yun<sup>1</sup>, SU Juan<sup>2</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>2</sup> (1. College of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Department of Natural Medicinal Chemistry, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish an effective quality control method of the traditional Chinese medicine—*Polygala japonica* Houtt. **Methods** HPLC-ELSD method was adopted for the determination of polygalasaponin F in *Polygala japonica* Houtt. The analysis was performed on a SHISEDO Capcell Pak C<sub>18</sub> (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) as the analytical column, acetonitrile-water (30:70, v/v) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min. The column temperature was at 25℃. **Results** The validation was carried out and the linearity ( $r^2 = 0.9998$ ) between 0.346 μg and 3.460 μg and recovery (99.85%) were acceptable. The precision and reproducibility were evaluated with RSD values 1.64% and 2.12%, respectively. **Conclusion** This method is simple and feasible for the determination of polygalasaponin F in *Polygala japonica* Houtt.

**[Key words]** Polygalasaponin F; HPLC; ELSD

瓜子金药材来源于远志科远志属植物瓜子金 (*Polygala japonica* Houtt.)或卵叶远志 *P. sibirica* L. 的全草,又名瓜子草、来麻回,最早见载于《植物名实图考》,名金锁匙、地藤草,为远志科植物瓜子金的带根全草,具有祛痰止咳、活血化瘀、解毒消肿等作用。近年来用于治疗肺结核、食道癌等疾病也取得了良好的疗效,尚未被《中国药典》收载<sup>[1]</sup>。

瓜子金中主要含有皂苷类成分和黄酮类成分,皂苷类成分是其活性成分。我们曾对瓜子金进行了系统的化学成分研究,发现瓜子金皂苷己 (C<sub>53</sub>H<sub>86</sub>O<sub>23</sub>)是瓜子金的皂苷主要成分之一,含量较高,并且未在其他植物中发现,具有特征性<sup>[2,3]</sup>,因此选择瓜子金皂苷己作为瓜子金质量控制的指标性成分。我们研究收集了贵州、广西等地药材,以及市场流通药材等 10余个不同产地的样品,对药材提取方法、色谱条件进行优化,并进行了系统适应性试验,建立了 HPLC-ELSD法测定瓜子金皂苷己的含量,为瓜子金

药材的质量控制提供可行的方法和依据。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(岛津 LC-2010A,日本),SEDEX 85型蒸发光散射检测器,上海科导超声仪(型号规格:SK2200H)。Sartorius BP211D型电子天平。甲醇(J. TBaker色谱纯),乙腈(J. TBaker色谱纯),水为 Milli-Q超纯水(美国 Millipore),其余试剂均为分析纯。瓜子金皂苷己对照品(自制,纯度 98%)。样品自采及市售,经上海第二军医大学张汉明教授鉴定为瓜子金 *Polygala japonica* Houtt 全草。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** SHISEDO Capcell Pak C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm ×250mm, 5 μm);乙腈-水(30:70)为流动相;流速 1.0 ml/min,柱温 25℃,进样量为 10 μl,检测器:SEDEX 85型蒸发光散射检测器。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取瓜子金皂苷己对照品适量,加 70%的甲醇溶液制成每 1 ml含 173 μg 的溶液,即得。

**[作者简介]** 焦晴晴(1984-),女,硕士研究生。Tel: (021) 81871331, E-mail: jqq198408@sohu.com

**[通讯作者]** 汪维云。Tel: 13866763366, E-mail: weiyunw@126.com

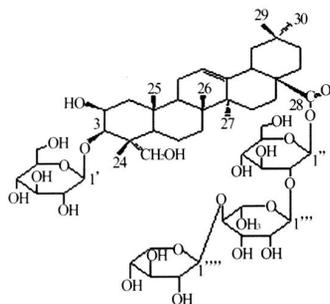


图 1 瓜子金皂苷己化学结构式

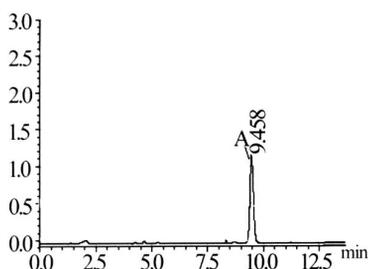


图 2 瓜子金皂苷己对照品的 HPLC-ELSD 图谱

2.3 供试品溶液的制备 提取方法经优化后,最终确定为取本品粉末(过四号筛)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70%的甲醇 10 ml,密塞,称定重量,超声处理(功率 90 W,频率 59 kHz)60 min后,放冷,再称定重量,用 70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

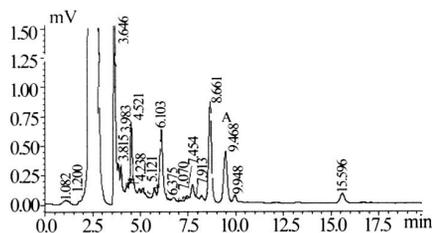


图 3 瓜子金药材中瓜子金皂苷己的含量测定图谱

2.4 标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液(浓度为 0.173 mg/ml) 2、4、6、8、10、12、14、16、20  $\mu$ l,进行色谱测定,按上述条件测定峰面积积分值,以瓜子金皂苷己进样量的对数为横坐标,峰面积积分值的对数为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 1.7985X + 4.7223$ ,  $R^2 = 0.9998$ 。理论板数平均为 17615.8。结果表明瓜子金皂苷己在 0.346 ~ 3.460  $\mu$ g范围内呈现良好线性关系。

2.5 精密度试验 取同一瓜子金皂苷己对照品溶液,连续测定 6次,计算得瓜子金皂苷己峰面积 RSD 值为 1.64%。结果表明仪器有良好的精密度。

2.6 重现性试验 取同一批号的样品 6份(样品批号为瓜子金 01),分别精密称重,照拟定的方法试验。测得瓜子金皂苷己峰面积,计算得到其平均含量为 0.653%, RSD 为 2.12%。结果证明此方法重现性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试样品,分别于提取后 0、1、2、4、6、8、10 h进样。测得瓜子金皂苷己峰面积 RSD 值为 2.21%,结果表明供试品溶液在 10 h内基本稳定。

2.8 回收率试验 取同一批号样品 6份,精密加入分别与样品中瓜子金皂苷己含量相等的对照品,按以上方法测定,分别计算回收率,结果表明瓜子金皂苷己平均回收率为 99.85%, RSD 为 3.00%。

2.9 样品测定 分别精密称取对照品与 10个批次的样品,配置成溶液后按含量测定的方法进行测定。结果见表 1。

表 1 不同批次瓜子金中瓜子金皂苷己含量测定结果 (n=2)

编号	样品产地	平均含量 (%)
1	贵州遵义	0.66
2	广西荔浦	0.8
3	贵州怀化	0.79
4	贵州安顺	0.84
5	广西河池	0.76
6	贵州邵阳	1.01
7	贵州衡阳	1.41
8	广西荔浦	0.75
9	安徽滁州	0.33
10	安徽亳州	0.19

注:药材瓜子金为统货

根据 10批样品检测结果,将含量限度为“本品以按干燥品计算,含  $C_{53}H_{86}O_{23}$ 不得少于 0.6%”。

### 3 讨论

3.1 提取方法的选择 首先我们分别采用了超声、回流、浸渍 3种不同的提取方法,结果表明 3种提取方法无显著差异。综合考虑提取时间和方法操作简单易行,所以选用超声法提取瓜子金中的瓜子金皂苷己。其次,分别考察了不同溶剂(水、乙醇和不同浓度的甲醇)对瓜子金皂苷己的提取效果,试验结果表明 70%甲醇提取的瓜子金皂苷己浓度最高。考察不同倍数的溶剂体积(20、40、60、80倍)对瓜子金皂苷己的提取效果,试验结果表明当溶剂体积倍数为样品质量的 20倍时,就可以将瓜子金中的瓜子金皂苷己完全提出。最后,分别考察超声时间(10、20、40、60、80 min)对瓜子金皂苷己的提取效果的影响,试验结果表明超声提取 60 min后,瓜子金皂苷

已基本提取完全。

**3.2 色谱条件的优化** 我们试用了 3 种型号的 C<sub>18</sub> 柱,包括: Agela Promosil C<sub>18</sub> 250 mm ×4.6 mm, 5 μm; Agela Venusil MP C<sub>18</sub> 250 mm ×4.6 mm, 5 μm; SHISEDO Capcell Pak C<sub>18</sub> 250 mm ×4.6 mm, 5 μm。结果表明用 SHISEDO Capcell Pak C<sub>18</sub> 柱能更好的分离瓜子金药材成分,而且对照品瓜子金皂苷己峰形较好,理论板数较高。考察了不同柱温(20、25、30)对分离效果的影响,结果表明柱温对分离效果的影响不大,在合适的流动相条件下,瓜子金皂苷己峰都能与其他峰达到基线分离,但考虑到其可操作性,我们选用最接近室温的 25。

**3.3 质量差异** 从表 1 中结果可以看出,受气候、土壤、生态环境等因素的影响,不同产地的瓜子金药材中瓜子金皂苷己的含量存在很大的差异,其含量在 0.19% ~ 1.41%。因此在瓜子金药材进一步研

究开发的过程中,应当监控其中瓜子金皂苷己的含量,尽量选择含量较高的药材。

### 【参考文献】

- [1] 都海鸥,扬转云,王灿岭. 瓜子金的生药学研究[J]. 国医论坛, 2001, 16(3): 46.
- [2] Wang HL, Gao J, Zhu DN, *et al*. Quality evaluation of Polygala japonica through simultaneous determination of six bioactive triterpenoid saponins by HPLC-ELSD [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43: 1552.
- [3] Wang H, Gao J, Kou J, *et al*. Anti-inflammatory activities of triterpenoid saponins from Polygala japonica [J]. Phytomedicine, 2008, 15: 321.
- [4] 申劲松,杜培刚. 民族药瓜子金的生药学研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2000, 44: 167.
- [5] 中国药典 2005年版[S]. 二部. 2005: 322.

[收稿日期] 2009-10-22

[修回日期] 2009-12-14

(上接第 129页)

的影响:由于乳糖为水溶性辅料,随着乳糖的溶解,扩散孔道和孔隙率增加,从而使得释放速率加快,因此乳糖的用量对释药行为有一定的影响。填充剂种类的影响:由结果可知,释药速率 MCC > 淀粉,这可能是由于淀粉与 MCC 相比,具有较强的溶胀性,能使已形成的孔道及孔隙率减小,所以其释药速率要慢于 MCC。

**3.2 压片压力对释药的影响** 从结果可知,压片压力对释药行为基本无影响,这是因为虽然压力的改变可影响骨架片的密度,使未水化骨架片的孔道和孔隙率发生变化,但对于 HPMC 骨架片,影响释药的主要因素是凝胶层的形成速度和凝胶层性质,当压力达到一定值后,释药行为与压力无关。

**3.3 体外释放条件对释药的影响** 溶出装置的影响:实验结果表明,不同的释放度测定装置对释药无显著性影响。但在实验过程中发现,采用小杯法时释放前片剂直接接触溶出杯底部,凝胶骨架片遇水后会生成亲水凝胶而粘附在杯壁上,从而可能造成有效释药面积的减少,影响释放测定结果。故本实验选择沉降篮法进行释放度试验考察。溶出介质的影响:难溶性药物 HPMC 骨架片的释放主要受骨架溶蚀为主和药物扩散为辅的协同控制,而 HPMC 在生理 pH 范围内性质稳定,故在不同溶出介质中,药物释放表现出一定的差异主要是由扩散所引起的。而药物从骨架片中扩散到介质中的驱动力则是取决于药物在介质中的溶解性<sup>[11]</sup>。由前几章实验可知,药物在水、0.1 mol/L HCl 溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶解度几乎相同,故其释放

行为也相似,即药物的释放不受 pH 值的影响。但 SDS 溶液对药物的溶解度有显著的影响,可使药物释放明显加快。同时,由实验结果可以看出,不同浓度的 SDS 溶液对药物释放基本无影响。

### 【参考文献】

- [1] 朱曼,郭代红. 新型大环内酯类免疫抑制剂——西罗莫司[J]. 中国药物应用与监测, 2005, 6: 26.
- [2] Vignot S, Faivre S, Aguirre D, *et al*. mTOR——targeted therapy of cancer with rapamycin derivatives[J]. Ann Oncol, 2005, 16(4): 525.
- [3] 吴亚铭,陈晓. 新型免疫抑制剂——西罗莫司[J]. 天津药学, 2003, 15(2): 72.
- [4] 江红,程元荣,黄捷,等. 免疫抑制剂 F904 的免疫抑制作用[J]. 中国抗生素杂志, 2000, 25(5): 382.
- [5] 闫丽霞,陈建红. 缓释、控释片剂的发展概况[J]. 天津药学, 1998, 10(4): 6.
- [6] 徐冬羽,屠锡德. 口服亲水凝胶骨架片的研究进展[J]. 药学进展, 2002, 26(1): 10.
- [7] 洪燕龙,冯怡,徐德生. 关于缓控释制剂的处方优化指标[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 15.
- [8] Kavita YH, Angela H, Moore D. Effects of Manufacturing process variables on *in vitro* dissolution characteristics of extended release tablets formulated with hydroxypropylmethylcellulose [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2003, 29(1): 791.
- [9] 林晓,陈济民. 水溶性药物骨架片释放达零级的几种方法[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(3): 192.
- [10] 秦婷婷,姚静,周建平. 溶胀型骨架片释药机制及其模型研究综述[J]. 药学进展, 2007, 31(4): 159.
- [11] 徐翔,田国祥,许东航,等. 不同 pH 的溶出介质对 HPMC 骨架片释药的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2004, 21(2): 108.

[收稿日期] 2009-10-24

[修回日期] 2009-12-27