

· 药剂与工艺 ·

HPLC-ELSD法测定湖北麦冬中主要皂苷的含量[△]

中国药科大学中药分析教研室(南京 210038) 吴 涛 余伯阳* 程志红 徐璐珊

摘 要 采用蒸发光散射检测器(ELSD)测定了湖北麦冬中山麦冬皂苷 B 的含量,结果表明,ELSD是皂苷类化合物较为适宜的检测器。经对不同采收期样品的含量考察,认为湖北麦冬的最佳采收期与传统采收期(清明)相一致。

关键词 湖北麦冬 山麦冬皂苷 B ELSD 甾体皂苷

Quantitative Determination of the Main Saponin Content in Hubei *Liriope* (*Liriope spicata* var. *prolifera*) by HPLC-ELSD

Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University (Nanjing 210038) Wu Tao, Yu Boyang, Cheng Zhi-hong and Xu Luoshan

Abstract Quantitative determination of saponins without UV absorption was tried by using the new detector ELSD in combination with HPLC. A pilot study on the determination of the content of 25 (S)-ruscogenin-1-O-β-D-fucopyranoside-3-O-α-L-rhamnopyranose, the main saponin in *Liriope spicata* var. *prolifera* was tried and showed that the accumulative rule of the constituents in the plants could be found. It was also found that the optimal harvesting time of *L. spicata* var. *prolifera* was around early April, the Chinese solar term of Qing-Ming, which coincides with the traditional Chinese practice. The results showed that ELSD is a reliable, highly sensitive and reproducible detector for saponins analysis.

Key words *Liriope spicata* var. *prolifera* Y. T. Ma lirioposides B ELSD steroid saponin

湖北麦冬 *Liriope spicata* var. *prolifera* Y. T. Ma 为《中华人民共和国药典》(1995年版)新增品种山麦冬的基原植物之一,在湖北省广泛栽培,并作为主流商品。湖北麦冬中所含皂苷类成分在免疫系统、心血管系统等方面具有良好的活性^[1-3]。为了探明湖北麦冬皂苷的积累规律,寻找最佳采收期、最佳采收部位,我们收集了不同采收时间的湖北麦冬,测定了其块根和须根中有效成分山麦冬皂苷 B 的含量。

由于皂苷为一类极性较大,结构复杂的化合物,它无紫外吸收,无专一显色剂,再加上麦冬皂苷测定经常受糖的干扰,在用紫外检测器时,若采用末端吸收,流动相的种类受到限制,增加了分离皂苷的难度,使得许多结构近似的皂苷无法分离。因此,我们采用了较先进的蒸发光散射检测器(ELSD)作为检测手段,利用 HPLC 法测定湖北麦冬中主要皂苷含量,同时对不同采收期的样品进行含量变化研究。

蒸发光散射检测器(ELSD)是一种通用质量型检测器,其检测原理及步骤为:柱子洗脱液进入雾化器针管,在针的末端,洗脱液和氮气混合形成小液

滴,液滴流经加热的漂移管将溶剂挥发,样品在溶剂蒸气中形成小液滴,样品颗粒进入流动池时,经过一束激光,颗粒散射激光,经硅晶体光电二极管检测散射光,并产生电信号。由于散色光强度的增加速度快于粒子直径的四次方,当峰被冲洗出来时,单位时间或单位体积溶液中溶液粒子的数目为常数,而这些粒子中溶质的浓度却在变化,因此当溶剂挥发后,组成纯溶质的粒子的大小与柱出口溶质的浓度的立方根呈正比,因此,ELSD 的响应值与浓度并非呈简单的线形关系,而是其峰面积或峰高的自然对数与浓度的自然对数有良好的线形关系^[5]。

漂移管温度与载气流速是影响 ELSD 检测的两个关键性参数。在 ELSD 的气化室中,载气流速对信号影响很大,当载气流速太低时,会形成大量雾滴,从而导致尖峰信号或噪声信号;另一方面当载气流速太高时,微滴量会下降导致信号响应降低。漂移管温度降低时,溶剂挥发不够完全;温度高时,由于分析样品部分挥发导致质粒挥发,使颗粒量下降而使检测器响应下降^[5]。

* Address: Yu Boyang, Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing

△霍英东教育基金资助项目

ELSD与示差折光检测器相比灵敏度高,对流动相系统温度变化不敏感,可进行梯度洗脱;与紫外检测器相比它扩大了高效液相色谱的应用范围,消除了杂质和流动相的紫外吸收干扰,无需校正因子就可定量^[4,5]。

ELSD在国外受到了分析化学家的重视并得到了广泛的应用。文献报道,成功利用 HPLC/ELSD法分析的物质有磷脂、表面活性剂、甘油三酯、脂肪、脂肪酸酯、糖、合成聚合物、甾体化合物、无机离子对、药物及其降解产物等^[5]。但在国内有关 ELSD在中药分析中的应用尚为少见,近来田南卉^[6]等用 HPLC/ELSD法测定了银杏叶中银杏内酯的含量;汤俊^[7]等对西洋参中拟人参皂苷 F₁的含量也进行了测定,结果均表明:用 ELSD检测,基线稳定,重现性、灵敏度均较好。

1 实验材料、仪器及测定条件

1.1 实验材料:湖北麦冬 *L. spicata* var. *prolifera* 的块根和须根。采集时间:1995年 1月 3日~ 3月 22日。

1.2 对照品:山麦冬皂苷 B^[25(S)-ruscogenin-1-Oβ-D-fucopyranoside-3-Oα-L-rhamnopyranosyl] (自提)。

1.3 试剂与药品:乙腈、甲醇(色谱纯),四氢呋喃(进口分装)。

1.4 仪器:色谱仪:Shimadzu-10AT高效液相色谱仪;检测器:Alltech ELSD 500型,气化温度 93.18℃,气体流速(N₂) 2.47 SLPM;记录仪:Chromatopac C-R6A;色谱柱:Alltech Versapack Cis (4.6 mm× 250 mm);纸速:2 mm/min

1.5 流动相:乙腈-四氢呋喃-水(45:6:2:9:51.5);流速:0.7 mL/min

2 实验方法

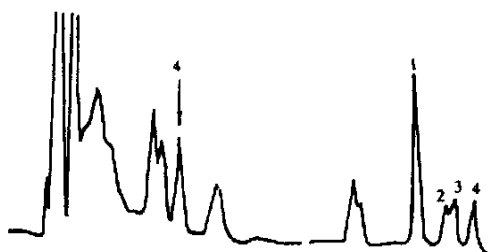
2.1 样品制备:精密称取干燥的湖北麦冬块根、须根粉末各 2g,置于索氏提取器内,加入 20 mL 甲醇,80℃水浴提取 3~ 4 h至无色,挥干甲醇,用 10 mL 水分两次超声溶解残渣,水饱和正丁醇萃取 4 次(15, 10, 5, 5 mL),合并正丁醇部分,回收正丁醇至干。块根用甲醇定容至 2 mL;须根用甲醇定容至 10 mL;精密吸取 2.5 mL,甲醇定容至 10 mL

2.2 标准曲线制备:精密称取对照品 2.8 mg,用甲醇定容至 10 mL,从中精密吸取 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 mL 对照品溶液,用甲醇定容至 2 mL。分析结果:以峰面积的自然对数为纵坐标,对照品浓度× 100 的自然对数为横坐标,做标准曲线^[5]。回归方程:lnA=

$$8.560 + 1.409 \ln C, r = 0.9992$$

2.3 精密度试验:取 0.21 mg/mL 浓度的对照品,连续进样 5 次,得 RSD= 1.428%。

2.4 含量测定:取样品制备项下样品 20 μL 进样,每个样品测定 3 次,结果见表 1,图 1, 2



1短葶山麦冬皂苷 C 2-Ls-S7 3-Ls-S10 4山麦冬皂苷 B

图 1 样品及其他皂苷 HPLC 图

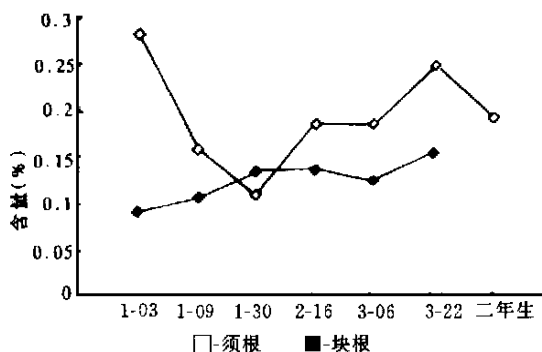


图 2 时间-含量关系曲线

表 1 不同采集时间及部位山麦冬皂苷 B 的含量

时 间	须根 (%)	块根 (%)
1995-01-03	0.283	0.8987 × 10 ⁻²
1995-01-19	0.158	1.0465 × 10 ⁻²
1995-01-30	0.109	1.3318 × 10 ⁻²
1995-02-16	0.185	1.344 × 10 ⁻²
1995-03-06	0.184	1.2169 × 10 ⁻²
1995-03-22	0.247	1.526 × 10 ⁻²
二年生	0.190	

2.5 加样回收率:精密称量 3月 6日的须根 1g,置于索氏提取器内,加入 20 mL 甲醇,回流 3~ 4 h至无色,挥干甲醇,10 mL 水分两次超声溶解残渣,加入山麦冬皂苷 B 0.96 mg,其余步骤同“样品制备项下的须根的制备”,共做 3 次,回收率为 106.6%, RSD= 2.48%。

2.6 其它皂苷的影响:湖北麦冬中,除含有山麦冬皂苷 B 外,尚还有其它皂苷,为了检验我们所选择的分离条件能否排除其它皂苷的干扰,将分得的短葶山麦冬皂苷 C, Ls-S10, Ls-S7 与山麦冬皂苷 B 混合,用测定条件分离,结果表明,所选用的色谱条件对山麦冬皂苷 B 具有较好的专属性。

2.7 湖北麦冬的失水率:把收集到的样品剪去须

根,洗净泥土,沥干水分,称重,记录的重量为鲜重;置于 80℃烘箱内,烘至恒重,记录的重量为干重。

表 2 湖北麦冬块根失水率

时 间	鲜重 g	干重 g	干 湿
1995-01-03	94	22.5	0.239
1995-01-19	41	12	0.293
1995-01-30	21	7	0.333
1995-02-16	110	44	0.400
1995-03-06	164	73	0.445
1995-03-22	258	128	0.496

3 讨论

3.1 从我们做的时间含量曲线来看,湖北麦冬块根皂苷的含量以 1月 30日、2月 16日、3月 22日较高;同时,根据湖北麦冬块根干湿之比,这两天的比例相近。从外观上看,3月 22日的湖北麦冬的个大饱满,而 1月 30日、2月 16日则瘦小、干瘪,因此,

在清明采收为宜。

3.2 从须根和块根的不同采收日期的皂苷含量曲线来看,这两部分的皂苷分布是不均匀的。1月 3日须根中皂苷含量较高,而块根最低,随着时间的推移,块根中皂苷的含量逐渐升高,到 1月 30日至最高点,此时,须根中皂苷含量却最低,而后再逐渐升高。至 3月 22日,块根、须根中含量都较高,其中块根中皂苷含量至最高。

参考文献

- 1 余伯阳,等.中国中药杂志,1991,16(10):584
- 2 高广猷,等.大连医学院学报,1984,6(3):12
- 3 桂 苒,等.中草药,1984,15(3):21
- 4 邓海根,等.药物分析杂志,1994,14(3):61
- 5 冯埃生,等.药物分析杂志,1996,16(4):414
- 6 田南卉,等.药物分析杂志,1997,17(4):282
- 7 汤 俊,等.药物分析杂志,1999,19(4):241

(1999-11-01收稿)

HPLC法测定何首乌及复方虫草胶囊中大黄素、大黄素甲醚的含量[△]

北京医科大学药学院(100083) 杨东辉* 蔡少青 王璇
北京中医药大学中药学院 魏璐雪

摘 要 采用 HPLC法测定了何首乌及含首乌制剂复方虫草胶囊中游离及结合型大黄素、大黄素甲醚的含量。色谱柱: Waters型 C₁₈柱(10^μm, 250 mm× 4.6 mm);检测波长: 254 nm;流动相: 甲醇-水-磷酸(850: 150: 1);流速: 1 mL/min。方法简便易行,结果准确,重现性好,可有效地控制生药及其制剂的质量。

关键词 何首乌 复方虫草胶囊 大黄素 大黄素甲醚

Determination of Emodin and Physcion in Capsules of Tuber Fleecflower (*Polygonum multiflorum*) and Its Complex Prescription with Cordycep by HPLC

College of Pharmacy, Beijing University of Medical Sciences (Beijing 100083) Yang Donghui, Cai Shaoqing and Wang Xuan

College of Chinese Materia Medica, Beijing University of TCM and Chinese Materia Medica Wei Luxue

Abstract Free and combined emodin and physcion in capsules of *Polygonum multiflorum* Thunb. and its complex prescription with cordycep were determined by HPLC. The chromatographic conditions adopted were Waters C₁₈ column (250 mm× 4.6 mm, 10^μm); detection wavelength, 254 nm; mobile phase, methanol-water-phosphoric acid (850: 150: 1); flow rate, 1 mL/min. The results showed that this method is simple, easy and reliable.

Key words *Polygonum multiflorum* Thunb. Fufangchongcao Capsule emodin physcion

复方虫草胶囊由冬虫夏草、何首乌、黄花败酱、灵芝及清半夏五味中药组成,为国家科委新药基金资助项目,是针对慢性疲劳综合征^[1]而研制的。主要

功效为润肺养肝益肾、理气化湿和络,主治因肺、肝、肾气阴不足,气滞湿阻,脉络不和所致的胸闷气短、疲劳倦怠、腰膝酸软、失眠健忘、性功能减退、易患感

* Address: Yang Donghui, College of Pharmacy, Beijing University of Medical Sciences, Beijing

杨东辉 女,28岁,1995年毕业于黑龙江中医药大学中药系,获硕士学位,同年考入北京中医药大学中药学院攻读博士学位,并于1998年获博士学位。1998年至今,于北京医科大学药学院博士后流动站生药研究室工作,主要从事中药有效成分及中药质量标准的研究。近期研究方向为复方血清药化学的研究。参加的研究工作有“长瓣金莲花化学成分的研究”、“黄花败酱化学成分的研究”、“复方虫草胶囊质量标准的研究”及“补阳还五汤作用机制的研究”,已发表和待发表论文6篇。

[△]本课题为国家科委新药基金资助课题