

- tumor activity of a polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs [J]. *Carbohydr Polym*, 2007, 67(3):313-318.
- [6] 高婷,白家峰,罗霞,等.亮菌多糖对小鼠免疫功能的影响[J].*四川大学学报:自然科学版*,2005,42:395-399.
- [7] Nair P K P, Rodriguez S, Ramachandran R, et al. Immune stimulating properties of a novel polysaccharide from the medicinal plant *Tinospora cordifolia* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4:1645-1659.
- [8] Cameiro L A M A, Freitas B D, Iacomini M. Cytotoxic effect against HeLa cells of polysaccharides from the lichen *Ramalina celastri* [J]. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1997, 29: 503-509.
- [9] Zhao C, Li M, Luo Y F, et al. Isolation and structural characterization of an immunostimulating polysaccharides from *fu-zi*, *Aconitum carmichaeli* [J]. *Carbohydr Res*, 2006, 341: 485-491.

HPLC-ELSD 法测定酸枣仁滴丸中酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸

张彦青^{1,2},解军波^{1,2},张明春^{1,2},赖长江生^{2*}

(1. 天津市食品生物技术重点实验室,天津 300134; 2. 天津商业大学 制药工程系,天津 300134)

摘要:目的 建立酸枣仁滴丸中酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸的测定方法。方法 应用超声提取和高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)检测。Hypersil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(0.1%醋酸),梯度洗脱;体积流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:20 μL;ELSD 参数:雾化温度:45℃;气体流量:2.0 L/min。结果 制剂中酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸达到基线分离且线性关系良好,线性范围分别为 15.4~154 μg/mL,22.8~228 μg/mL,28.0~280 μg/mL,平均加样回收率分别为 98.17%、99.21%、97.89%。结论 该方法快速简便、精密度好、灵敏度高,可用于酸枣仁滴丸剂中酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸的同时测定。

关键词:酸枣仁滴丸剂;酸枣仁皂苷 A;酸枣仁皂苷 B;白桦脂酸;高效液相色谱-蒸发光散射检测器

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)02-0234-02

酸枣仁为鼠李科枣属植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow 的干燥种子,宁心安神、益阴敛汗,为镇静安神的传统药物之一^[1]。目前酸枣仁的临床应用仅限于汤剂、口服液和复合胶囊剂。汤剂有临时煎煮、味苦难服、携带不便、易霉败变质,口服液口感较差,胶囊剂吞服不易等缺点。中药滴丸剂是在中药丸剂的基础上发展起来的,避免了传统中药生物利用度低、服用不方便、起效慢的缺点,同时发扬了传统中药安全性好、不良反应小的优点。为了克服酸枣仁现有剂型的缺点,笔者利用 PEG 6000 和泊罗沙姆 188 作为主要辅料制备了酸枣仁滴丸剂。酸枣仁中所含的酸枣仁皂苷 A、B 与白桦脂酸为三萜皂苷类成分,紫外吸收差,不宜采用 UV 法检测,而 ELSD 检测器为质量型通用检测器,可检测挥发性低于流动相的化合物。目前关于酸枣仁及其相关制剂仅见酸枣仁皂苷 A、B 的测定报道^[2~4]。本实验建立了 HPLC-ELSD 法用于测定酸枣仁滴丸中主要有效成分酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸,为酸枣仁滴丸质量标准的制定提供参考。

1 仪器与试剂

安捷伦 1100 型高效液相色谱仪,Agilent 1100 色谱工作站,ELSD 检测器,Sartorius BP211D 电子天平,KQ-218 型超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司)。

酸枣仁滴丸(自制,35 mg/丸),酸枣仁皂苷 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110734-200408),酸枣仁皂苷 B、白桦脂酸对照品(上海顺勃生物工程技术中心,质量分数大于 98%),甲醇、乙腈、冰醋酸均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[2~4]:Hypersil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(0.1%醋酸),梯度洗脱;体积流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;进样量:20 μL;ELSD 参数:雾化温度:45℃,气体流量:2.0 L/min。

2.2 对照品溶液的配制:分别精密称取酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸对照品 1.54、2.28、2.80 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀后即得混合对照品溶液。

* 收稿日期:2008-07-14

基金项目:天津市科技支撑计划项目(07ZCKFNC00300)

2.3 供试品溶液的制备:称取酸枣仁滴丸适量,置研钵中研磨,取适量研碎,精密称量粉末 1.0 g,置于 25 mL 量瓶中,定量加入 70%乙醇 25 mL,超声震荡溶解(超声功率 100 W,时间 10 min),冷却至室温,0.45 μm 针筒式微孔滤膜滤过,即得,备用。

2.4 标准曲线的制备:分别精密吸取混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置 5.0 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,进样 20 μL,进样测定峰面积。以进样质量浓度的常用对数值为横坐标,峰面积常用对数值为纵坐标,进行线性回归,得回归方程。酸枣仁皂苷 A: $Y = 1.8369X - 0.1881$, $r = 0.9991$,在 15.4 ~ 154 μg/mL 呈良好的线性关系;酸枣仁皂苷 B: $Y = 1.5503X - 0.0104$, $r = 0.9992$,在 22.8 ~ 228 μg/mL 呈良好的线性关系;白桦脂酸: $Y = 1.3453X + 0.7118$, $r = 0.9992$,在 28.0 ~ 280 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:批号 20080617 酸枣仁滴丸制备供试品溶液,进样 20 μL,连续进样 5 次,测定峰面积,计算得酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸峰面积积分值的常用对数值的 RSD 分别为 1.18%、0.79%、1.27%。

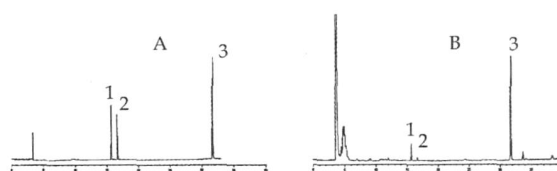
2.6 稳定性试验:批号 20080617 酸枣仁滴丸制备供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 进样 20 μL 进行分析,测定色谱峰面积,计算得酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸峰面积积分值的常用对数值的 RSD 分别为 1.29%、0.86%、1.76%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取批号 20080617 酸枣仁滴丸 5 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸质量分数的 RSD 分别为 1.57%、2.15%、1.68%。

2.8 加样回收率试验:精密称取 20080617 批酸枣仁滴丸粉末 1.0 g,精密加入 1.2 mL 混合对照品溶液,制备供试品溶液,依法测定,结果酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸的加样回收率分别为 98.17%、99.21%、97.89%,RSD 分别为 2.16%、1.90%、2.57%。

2.9 样品测定:取 3 批酸枣仁滴丸,制备供试品溶液,进样测定峰面积,每批重复测定 3 次,按回归方程计算酸枣仁皂苷 A、B 和白桦脂酸的质量分数,色

谱图见图 1,结果见表 1。



1-酸枣仁皂苷 A 2-酸枣仁皂苷 B 3-白桦脂酸
1-jujuboside A 2-jujuboside B 3-betulinic acid

图 1 对照品(A)和酸枣仁滴丸(B)的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A) and Suanzaoren Dropping Pills (B)

表 1 酸枣仁滴丸中酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 与白桦脂酸的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of jujuboside A, jujuboside B, and betulinic acid in Suanzaoren Dropping Pills (n=3)

批 号	酸枣仁皂苷 A (μg · g ⁻¹)	酸枣仁皂苷 B (μg · g ⁻¹)	白桦脂酸 (μg · g ⁻¹)
20080617	188.79	268.18	256.39
20080618	187.09	283.94	249.99
20080618	197.95	281.08	264.07

3 讨论

酸枣仁中所含的酸枣仁皂苷 A、B 与白桦脂酸为三萜皂苷类成分,紫外吸收差,不宜用 UV 法检测,而 ELSD 检测器为质量型通用检测器,可检测挥发性低于流动相的化合物,且化合物的响应值接近,因而峰面积比例亦近乎各组分的质量之比,同时灵敏度及稳定性亦能符合测定的要求,正逐步成为分析无紫外吸收类成分的有力工具。

本研究采用乙腈-水(0.1%醋酸)梯度洗脱,得到较好的分离度,且保留时间适当。方法学考察发现本方法可以很好地测定酸枣仁滴丸中酸枣仁皂苷 A、B 与白桦脂酸,可以为酸枣仁滴丸的质量控制提供参考和依据。

参考文献:

- [1] 彭智聪,朱建军.酸枣仁化学成分及药理研究进展[J].时珍国医国药,2001,12(1):86-87.
- [2] 李会军,李 萍.高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 及 B 的含量[J].药物分析杂志,2000,20(2):82-84.
- [3] 隋 宏,周慧玲,陈建峰,等. HPLC-ELSD 测定酸枣仁合剂中酸枣仁皂苷 A 的含量[J].现代食品与药品杂志,2007,17(6):35-37.
- [4] 张志斐,袁志芳,张兰桐,等.河北道地药材酸枣仁 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J].中草药,2007,37(8):1247-1250.