

高效液相色谱法- 蒸发光散射检测测定蒺藜皂苷 1 的含量

祁海宏, 王 春, 严伟民 (上海复旦复华药业, 200031)

摘要: 建立用 HPLC- ELSD 法测定蒺藜皂苷 1 (Terrestrosin 1) 的含量。用 Diamonsil C₁₈ 柱; 乙腈- 水 (36: 64) 为流动相。蒺藜皂苷 1 在 15~ 3000μg · ml⁻¹ 范围内, 进样量与峰面积有良好的线性关系 (n = 6, r= 0. 9997)。回收率为 98. 39%, RSD 为 1. 11% (n= 9)。测定三批蒺藜皂苷 1 含量均> 98%。方法简便准确, 可作为蒺藜皂苷 1 的含量测定方法。

关键词: 蒺藜; 蒺藜皂苷 1; HPLC- ELSD 法

中图分类号: R927. 2 文献标识码: A 文章编号: 1002- 7777 (2006) 03- 0158- 02

Determination of Terrestrosin 1 by HPLC- ELSD

Qi Haihong, Wang Chun and Yan Weimin (Shanghai Fudan Forward Pharmaceuticals Co., Ltd., 200031)

ABSTRACT An HPLC- ELSD method was established for determination of terrestrosin 1. A Diamonsil C₁₈ column and evaporative light scattering detector (ELSD) were used. Acetonitrile- water (36: 64) were used as mobile phase. There was a good linear relationship (r= 0. 99997, n= 6,) when terrestrosin 1 was 15~ 3000μg · ml⁻¹. The recovery rate was 98. 39% and RSD was 1. 11% (n= 9). The content of terresrosin 1 in any of the three batches tested was greater than 98%. The method was simple and accurate. It could be used for the determination of Terrestrosin 1.

KEY WORDS Tribulus Terretris; terrestrosin 1; HPLC; ELSD

心脑血管舒通片是由蒺藜科植物蒺藜 (Tribulus terretris L) 地上部分提取所得的蒺藜粗皂苷制成的薄膜衣片, 具有活血化瘀, 舒利血脉等功效, 临床用于治疗心脑血管疾病^[1]。该制剂中主要包括呋甾皂苷和螺甾皂苷二类成分, 前者是心脑血管舒通片治疗心血管疾病的主要有效成分。为更好的控制心脑血管舒通片的质量, 对呋甾皂苷中易于提取的蒺藜皂苷 1 进行提纯。对其含量测定进行了探讨。

1 仪器与试剂

Waters2487 型液相色谱仪, Alltech2000 型蒸

发光散射器, 泵: Waters1525, Waters 色谱数据工作站; 蒺藜皂苷 1 (自制, 纯度检验合格); 心脑血管舒通片 (3 批样品); 乙腈、甲醇为分析纯。

2 实验方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil- C₁₈ 柱 (4. 6× 250mm, 5μm); 流动相 乙腈- 水 (36: 64); 流速 1. 0ml · min⁻¹; 检测波长 214nm; 柱温 25℃; 理论塔板数按蒺藜皂苷峰计算应不低于 2000, 进样量 20μl。

2.2 检测器条件

于进一步地研究。

参考文献:

[1] 中国药典[S] . 一部, 2000: 附录 79
[2] 中国药典[S] . 一部, 2005: 附录 71
[3] 徐国钧, 等. 中国药材学 [M] . 北京: 中国医药科技出版社, 1985: 869, 891, 975, 993, 1245

子、苦丁茶、桑叶、菊花、桂花。据文献记载^[3]: 决明子有抗真菌的作用; 菊花对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌均有抑制。但从本试验结果显示: 其仅对金黄色葡萄球菌有抑制。这可能与药材在处方中的比例、药材之间的协同作用以及药材的产地、采摘时间有关, 具体属何种情况则有待

蒸发光散射器气化温度为 40℃，氮气压力为 2.0×10^5 Pa。

2.3 蒺藜皂苷 1 溶液的制备

精密称取适量蒺藜皂苷 1，用 67% 甲醇溶解成不同浓度的溶液。

2.4 线性关系考察

吸取浓度为 15、30、60、150、1500、3000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蒺藜皂苷 1 溶液 20 μL 依次进样，记录峰面积。以蒺藜皂苷 1 的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标，峰面积为纵坐标，进行回归，计算回归方程为 $Y = -225219.559 + 5080.709X$ ， $r = 0.9997$ 。结果表明蒺藜皂苷 1 在 15~3000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内有良好的线性关系。

2.5 回收率试验

精密称取已知含量的蒺藜皂苷原料 0.2g，超声提取后分别加入蒺藜皂苷 1，1.0mg，1.2mg，1.5mg（各 3 份）定容后依次进样 20 μL ，记录峰面积，结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2.3548	2.3184	98.45		
2.3489	2.3268	99.06		
2.3608	2.3213	98.33		
2.5597	2.5561	99.86		
2.5382	2.4760	97.55	98.39	1.11
2.5684	2.4998	97.33		
2.8597	2.8462	99.53		
2.8481	2.8179	98.94		
2.8601	2.7600	96.50		

2.6 精密度试验

分别取浓度为 0.65、1.625、3 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蒺藜皂苷 1 溶液进样 20 μL ，连续进 3 针，记录峰面积。每个浓度的平均峰面积为 2369733， RSD 为 1.83%；7274389， RSD 为 0.71%；14355560， RSD 为 1.76%。

2.7 重复性试验

称取蒺藜皂苷原料药 5 份于 1000ml 容量瓶中，加入甲醇超声提取，冷至室温时以甲醇定容，过滤后进样， RSD 为 0.47%。

2.8 稳定性考察

取浓度为 0.3 mg/mL 的蒺藜皂苷 1 溶液分别于

0、4、8、12、18、24、48、72 小时分别进样，平均峰面积为 822857， RSD 为 1.20%。结果表明蒺藜皂苷 1 在三天内基本稳定。

2.9 含量测定

2.9.1 最低检测限试验 吸取 1、2、3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蒺藜皂苷 1 溶液分别进样，经试验，浓度为 0.001 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时的信噪比为 3:1，由此可知检测限为 0.02 μg 。

2.9.2 含量测定 精密称取三批样品，配制成 3 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的溶液，做为供试品分别进样，记录除蒺藜皂苷 1 峰之外的杂质峰面积。再分别从中吸取 20 μL 的溶液，稀释至 1ml，做为对照品进样 20 μL ，对照品与供试品色谱图见图。记录蒺藜皂苷 1 峰面积，用自身对照法计算蒺藜皂苷 1 的含量，见表 2。

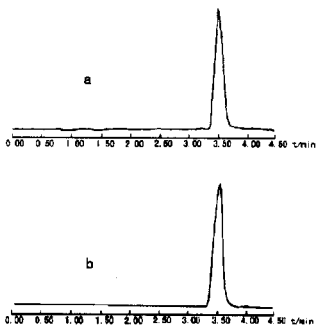


图 蒺藜皂苷 HPLC 色谱图
a 供试品; b 自制对照品

表 2 含量测定试验结果

批号	杂质峰面积 ($3 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	峰面积 ($0.06 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	含量 (%)
040701	57286	66000	98.26
040702	44343	58755	98.49
040703	97486	110402	98.23

结果表明蒺藜皂苷 1 含量符合要求。

3 讨论

本文采用 HPLC-ESLD 法测定蒺藜皂苷 1 (Terrestrosin 1) 含量，方法简便，重复性好，结果稳定，可以作为该品的含量测定方法。

参考文献:

[1] 王 艳, 陆蕴如. 刺蒺藜中皂甙含量测定的研究 [J]. 药物分析杂志, 1991, 11 (2): 70