

## HPCE 测定脑力宝丸中远志皂苷元和远志酸

王洁, 曹冲, 张一鸣, 陈安家\*

(山西医科大学药学院, 太原 030001)

**[摘要]** 目的: 建立测定脑力宝丸中远志皂苷元和远志酸含量的高效毛细管电泳法。方法: 未涂层毛细管柱(75  $\mu\text{m} \times 57$  cm, 有效长度 50 cm); 缓冲液 20  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼砂与 20% 甲醇; 分离电压 25 kV; 检测波长 210 nm。结果: 远志皂苷元、远志酸的线性范围分别为 13.25 ~ 212  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.9971$ ), 12.5 ~ 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.9977$ )。脑力宝丸中远志皂苷元、远志酸的平均回收率分别为 100.5%, 100.6%。结论: 该法简便, 准确、重复性好, 可用于脑力宝丸的质量控制。

**[关键词]** 远志皂苷元; 远志酸; 毛细管电泳; 脑力宝丸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0054-03

## Determination of Senegenin and Polygalactic Acid in Naolibao Pill by HPCE

WANG Jie, CAO Chong, ZHANG Yi-ming, CHEN An-jia\*

(Pharmacy College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a determination method for senegenin and polygalactic acid in Naolibao pills by capillary electrophoresis. **Method:** The separation was carried out in an uncoated fused silica capillary (75  $\mu\text{m} \times 50$  cm). The running voltage was 25 kV. The buffer was 20  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  containing 20% methanol. The wavelength was at 210 nm. **Result:** senegenin was linear in the range of 13.25 - 212  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.9971$ ) and polygalactic acid was linear in the range of 12.5 - 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.9977$ ). The average recoveries of senegenin and polygalactic acid in Naolibao pills were 100.5% and 100.6% respectively. **Conclusion:** This method is proved to be simple, rapid and accurate, and can be used as a new method for the quality control of Nailibao pills.

**[Key words]** senegenin; polygalactic acid; capillary electrophoresis; Naolibao pills

脑力宝丸由远志、地黄、五味子等 10 味药组成, 具有滋补肝肾, 养心安神的功能, 用于肝肾不足, 心神失养, 健忘失眠, 烦躁多梦, 神疲体倦等。方中远志为主要成分, 具有养心安神之功能<sup>[1]</sup>。皂苷为远志镇静、祛痰、利尿、降压等功效的主要活性成分, 其经酸水解可得远志皂苷元和远志酸。目前, 脑力宝制剂已有用 HPLC 测定远志皂苷元含量的报道<sup>[1]</sup>,

高效毛细管电泳法 (HPCE) 同时测定脑力宝丸中远志皂苷元和远志酸的含量尚未见报道。建立了 HPCE 法测定脑力宝丸中远志皂苷元和远志酸的含量, 方法简单快捷, 结果令人满意, 为该制剂的质量研究提供了一种新方法。

### 1 仪器与试剂

BECKMAN P/ACE MDQ (配有二极管阵列检测器) 型高效毛细管电泳仪, DAD 检测器, 熔融石英毛细管 (Beckman 公司)、KQ-100 型超声波清洗器。

远志皂苷元、远志酸对照品 (中国药品生物制品检定所); 脑力宝丸 (河南省宛西制药股份有限公司, 批号 091001, 090207, 090901; 广东万年青制药有限公司, 批号 090217, 090809, 090210); 硼酸、氢氧化钠均为分析纯; 甲醇为色谱纯; 水为去离子水。

**[收稿日期]** 20100830(010)

**[基金项目]** 山西省自然科学基金项目(2008011077-1)

**[第一作者]** 王洁, 硕士研究生, 研究方向: 中药质量控制与药物分析方法, Tel: 13803413253

**[通讯作者]** \* 陈安家, 教授, 理学博士, 从事药物分析研究, Tel: 15835108120, E-mail: chenanjia888@163.com

## 2 方法与结果

**2.1 电泳条件** 未涂层毛细管柱(75  $\mu\text{m}$   $\times$  57 cm, 有效长度 50 cm);缓冲液 20  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  硼砂与 20% 甲醇;分离电压 25 kV;检测波长 210 nm;温度 25  $^{\circ}\text{C}$ ;进样条件 0.5 psi, 5 s。每天分析之前,用 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液冲洗毛细管 10 min,纯净水冲洗 15 min,运行缓冲液冲洗 10 min。进样前分别用 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠、纯净水和缓冲液各冲洗 3 min。每 5 次进样后更换缓冲液。在此条件下,对照品与供试品 CE 图见图 1。

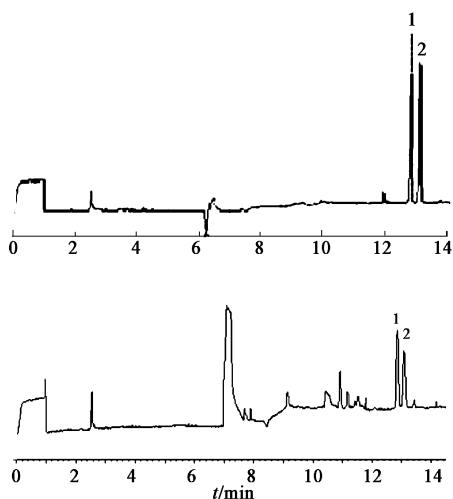


图 1 脑力宝丸的 HPCE 图

A. 对照品;B. 样品;

1. 远志皂苷元;2. 远志酸

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取远志皂苷元对照品 10.6 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得远志皂苷元储备液 ( $1.06\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 精密称取远志酸对照品 10.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得远志酸储备液 ( $1.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )。分别取储备液各 250  $\mu\text{L}$ , 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 制得含 53  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  远志皂苷元和 50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  远志酸的混合溶液, 即得对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备<sup>[1-6]</sup>** 取脑力宝丸, 除去包衣, 研细, 过三号筛, 取 1.5 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加甲醇 25 mL, 浸泡过夜, 超声处理 30 min  $\times$  2, 滤过, 合并滤液, 滤液蒸干, 残渣加 10% 盐酸溶液 20 mL, 微热使溶解, 置沸水浴中水解 2 h, 取出, 滤过, 沉淀用水洗至中性, 连同滤纸置锥形瓶中, 加甲醇 40 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

**2.4 线性关系考察** 取适量远志皂苷元、远志酸对照品贮备液, 分别加甲醇倍比稀释成含远志皂苷元 212, 106, 53, 26.5, 13.25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 含远志酸 200, 100, 50, 25, 12.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.22  $\mu\text{m}$ ) 滤过, 分别进样, 测定峰面积。分别以远志皂苷元质量浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、远志酸质量浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制远志皂苷元、远志酸标准曲线。得远志皂苷元的回归方程  $Y = 312.4X + 6\ 270.8$ ,  $r = 0.997\ 1$ ; 远志酸的回归方程  $Y = 282.6X + 5\ 286.2$ ,  $r = 0.997\ 7$ 。结果表明远志皂苷元在 13.25 ~ 212  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 远志酸在 12.5 ~ 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 浓度与峰面积之间呈良好线性关系。

**2.5 精密度试验** 用对照品溶液重复测定 5 次, 脑力宝丸中以远志皂苷元峰面积计算 RSD 1.2%, 以远志酸峰面积计算 RSD 1.4%。

**2.6 重复性试验** 取脑力宝丸 (河南省宛西制药股份有限公司, 批号 091001), 按供试品溶液的制备方法平行制备 5 份并测定其含量, 脑力宝丸中以远志皂苷元的含量计算 RSD 1.8%, 以远志酸的含量计算 RSD 2.0%。

**2.7 稳定性试验** 取同一份供试品溶液 (河南省宛西制药股份有限公司, 批号 091001), 分别在制备后的 0, 2, 4, 6, 8 h 进行含量测定, 脑力宝丸中以远志皂苷元的峰面积计算 RSD 0.9%, 以远志酸的峰面积计算 RSD 1.0%, 供试品溶液在 8 h 内稳定。

**2.8 加样回收率试验** 采用加样回收方法, 精密称取已知含量的脑力宝丸 (河南省宛西制药股份有限公司, 批号 091001) 适量 (约相当于远志酸约 1.7 mg, 远志皂苷元约 1.9 mg), 准确加入一定量的远志皂苷元和远志酸对照品, 按供试品溶液的制备方法制备 5 份供试品溶液并测定其含量, 脑力宝丸中远志皂苷元的平均回收率 100.5%, RSD 1.1%; 远志酸的回收率 100.6%, RSD 1.2%。见表 1, 2。

表 1 远志皂苷元加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.752 3	1.93	1.91	3.87	101.6		
0.758 2	1.94	1.91	3.85	100.0		
0.747 2	1.91	1.91	3.85	101.6	100.5	1.1
0.760 2	1.95	1.91	3.84	99.0		
0.746 1	1.91	1.91	3.83	100.5		

表 2 远志酸加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.752 3	1.67	1.70	3.40	101.8		
0.758 2	1.68	1.70	3.37	99.4		
0.747 2	1.66	1.70	3.37	100.6	100.6	1.2
0.760 2	1.69	3.42	1.70	101.8		
0.746 1	1.66	1.70	3.35	99.4		

**2.9 样品测定** 按 2.3 项下处理不同厂家、不同批号的脑力宝丸,制备成供试品溶液,在选定的电泳条件下进样,记录电泳图,用回归曲线法测定供试品中远志皂苷元和远志酸的含量。将制得的同一厂家同一批号供试品溶液的测定结果取平均值。结果见表 3。

表 3 不同厂家不同批号脑力宝丸中远志皂苷元和远志酸的测定 (n = 3) mg · g<sup>-1</sup>

批号	远志皂苷元	远志酸
091001	2.56	2.22
090207	2.48	2.12
090901	2.50	2.32
090217	2.16	2.04
090809	2.32	2.12
090210	2.20	2.20

### 3 讨论

**3.1 测定波长的选择** 取对照品溶液为分析对象,以 20 mmol · L<sup>-1</sup> 硼砂与 20% 甲醇为运行缓冲液,在 200 ~ 400 nm 进行二极管阵列扫描,结果在远志皂苷元和远志酸均在 210 nm 处吸收大,检测灵敏度高,基线稳定。故选择 210 nm 为检测波长。

**3.2 缓冲液的种类和浓度的选择** 远志皂苷元与远志酸结构相似,故出峰时间相近。笔者考察了磷酸盐、醋酸盐、硼砂和硼酸缓冲液系统。试验发现采用硼砂为缓冲液时,两物质均出峰,峰形对称,且当浓度达到 20 mmol · L<sup>-1</sup>,两峰分离良好,分离效率高,运行电流适宜,保留时间适当。浓度低于 20 mmol · L<sup>-1</sup>时,远志皂苷元和远志酸两峰分离极差;浓度高于 20 mmol · L<sup>-1</sup>时,随着硼砂浓度的增高,电流增大,焦耳热严重,保留时间延长。

**3.3 缓冲液 pH 的选择** 远志皂苷元和远志酸为齐墩果酸类化合物,具有弱酸性,缓冲液的条件摸索主要在 pH 7 ~ 9 弱碱性范围内进行。随着 pH 的增

加,远志皂苷元和远志酸的分离度增大,迁移时间也随之增长。当 pH 为 8 时,远志皂苷元和远志酸分离良好且迁移时间适宜。

**3.4 有机溶剂对分离的影响** 在毛细管电泳中,有机溶剂作为改性剂,可以改善分离。本试验考察了甲醇含量为 5% ~ 30% 对分离的影响。结果表明,随着甲醇含量的增加,远志皂苷元和远志酸分离度增加,但是迁移时间增长,且焦耳热增加使得基线噪音变大。故最终确定缓冲液系统为 20 mmol · L<sup>-1</sup> 硼砂与 20% 甲醇 (pH 8.0)。

**3.5 运行电压的选择** 提高分离电压可以缩短分析时间,试验中考察了 10 ~ 30 kV 电压时远志皂苷元和远志酸的分离情况。电压为 25 kV 时分离时间短,分离效率高且峰形尖锐,因此选择 25 kV 为分离电压。

**3.6 分离柱温的选择** 柱温对电解质溶液的黏度、谱带扩展、离子淌度等有直接的影响。柱温试验发现 15 ~ 35 °C 区间的不同柱温下分离时间变化不大,但对两种组分的分离度有较大影响。在柱温为 25 °C 时,两物质的分离都能较好满足工作需要,因此选择 25 °C 作为实验柱温。

**3.7 实验曾考察了不同提取方法** (索氏提取法 5 h、超声提取法 0.5 h × 2 和回流提取法 2 h)、不同水解时间 (1, 1.5, 2 h) 和不同盐酸浓度 (5%, 10%, 20%) 的提取效率,确定的样品处理方法为超声提取 0.5 h × 2, 10% 盐酸水解 2 h。

### [参考文献]

- [1] 唐波,徐海波. HPLC 测定脑力宝颗粒中远志皂苷元的含量[J]. 中国现代中药, 2007, 9(7): 20.
- [2] 杨国红,孙晓飞. 反相高效液相色谱法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(4): 261.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2005.
- [4] 赵云生,李占林,张丽萍,等. 晋产远志种质资源皂苷元含量测定[J]. 河北北方学院学报, 2004, 21(5): 17.
- [5] 徐荣初,刘培丽,张旭东,等. 高效液相色谱法测定复方海蛇胶囊中远志酸含量[J]. 中国药业, 2008, 17(13): 23.
- [6] 梁尧亮,林书玉,刘东. 超声提取-分光光度法测定远志总皂苷的含量[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(1): 104.

[责任编辑 蔡仲德]