

## HPLC-ELSD 测定穿山龙中薯蓣皂苷元

潘海峰, 洪霞, 李艳荣

(承德医学院中药系, 河北 承德 067000)

**[摘要]** 目的: 建立高效液相色谱蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法测定穿山龙中薯蓣皂苷元的含量, 并与 2005 年版《中国药典》方法紫外检测器(DAD)测定的结果进行比较。方法: Agilent EclipseXDB-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(95:5), 柱温 40 °C; ELSD 检测器漂移管温度为 70 °C, 载气压力 367.5 Pa, Gain7, Filter1; 进样量 10 μL。结果: 薯蓣皂苷元在 2.60 ~ 20.8 μg 线性关系良好( $r=0.999\ 94$ ), 平均回收率为 97.3%, RSD 1.94%。结论: 该方法简便, 灵敏, 准确性高, 可作为穿山龙中薯蓣皂苷元含量测定的方法; 与 DAD 相比, 该法所得图谱基线平整, 检测灵敏度高, 样品分离度好, 测得样品含量偏高。

**[关键词]** 穿山龙; 薯蓣皂苷元; 蒸发光散射检测器; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0119-03

### Determination of Diosgenin in *Dioscorea nipponica* by HPLC-ELSD

PAN Hai-feng, HONG Xia, LI Yan-rong

(Institute of Chinese Materia, Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop an HPLC-ELSD method for the determination of diosgenin in *Dioscorea nipponica* and comparison of content by ELSD and DAD. **Method:** An Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of methanol-water(95:5) at 40 °C. Evaporated light scattering detector was used. The drift tube temperature was at 70 °C and the pressure of nebulizing gas was 367.5 Pa, gain was 7, filter was 1. The injected volume was 10 μL. **Result:** The linear calibration curve was obtained in the ranges of 2.60-20.8 μg for diosgenin( $r=0.999\ 94$ ). The average recovery was 97.3% with RSD of 1.94%. **Conclusion:** This method is simple, sensitive and accurate. It can be used for the quality control of *D. nipponica* Makino. This method achieves more flat baseline, higher sensitivity, better resolution and higher content than DAD.

**[Key words]** *Dioscorea nipponica*; diosgenin; ELSD; determination

穿山龙为薯蓣科植物穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的干燥根茎, 具有祛风湿, 止痛, 舒筋活血, 止咳平喘祛痰之功效, 用于风湿性关节炎, 腰腿疼痛、麻木, 大骨节病, 跌扑损伤, 闪腰岔气, 慢性支气管炎, 咳嗽气喘<sup>[1]</sup>。2005 年版《中国药典》采用高效液相色谱法紫外检测器对穿山龙薯蓣皂苷元进行含量测定, 并且样品的处理过程为先提取皂苷再用酸水解出苷元然后进行萃取, 方法复杂。而本

实验采用双相酸水解法提取出苷元<sup>[2]</sup>, 用蒸发光散射检测器测定薯蓣皂苷元的含量, 方法简便, 回收率高, 准确性高<sup>[3]</sup>, 并克服了在紫外末端检测时流动相带来的干扰, 提高了检测的灵敏度。本实验还将蒸发光散射检测器与紫外检测器测定的含量进行了比较。

#### 1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(G1322A 真空在线脱气机, G1311A 四元泵, G1329A 标准型自动进样器, G1316A 柱温箱, G4218A 蒸发光散射检测器, G1315D 二极管阵列检测器, Chemstation 化学工作站等)(美国安捷伦)。薯蓣皂苷元对照品(批号 1539-

**[收稿日期]** 20101216(004)

**[第一作者]** 潘海峰, 副主任药师, 从事中药制剂、分析及中药新药研究, E-mail: ph2301@163.com

200001, 供含量测定, 中国药品生物制品检定所提供); 穿山龙(10 批, 产地河北承德); 甲醇为色谱纯(美国 Fisher 试剂公司); 水为娃哈哈纯净水(河北省高碑店市经济开发区生产); 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 溶液的制备** 精密称取薯蓣皂苷元对照品适量, 加甲醇制成  $2.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液, 作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液适量加甲醇制成  $1.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。精密称取穿山龙药粉  $1.0 \text{ g}$ , 置  $250 \text{ mL}$  圆底烧瓶中, 加入含  $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸的  $60\%$  甲醇水溶液和石油醚( $60 \sim 90 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 各  $50 \text{ mL}$  于沸水浴中加热回流提取  $6 \text{ h}$ 。过滤, 滤液静置分层, 取上层石油醚相, 下层再用石油醚萃取 3 次(每次  $50 \text{ mL}$ ) 合并萃取液, 浓缩至干, 用甲醇溶解并定容至  $5 \text{ mL}$ , 即得供试品溶液。

**2.2 色谱条件及系统适应性** Agilent EclipseXDB- $\text{C}_{18}$  柱( $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ } \mu\text{m}$ ), 流动相为甲醇-水( $95:5$ ), 柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , ELSD 漂移管的温度  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , 载气压力  $367.5 \text{ Pa}$ , Gain7, Filter 值 1, 进样量  $10 \text{ } \mu\text{L}$ 。记录对照品、供试品溶液色谱图(图 1), 薯蓣皂苷元与其相邻色谱峰的分度大于 1.5。

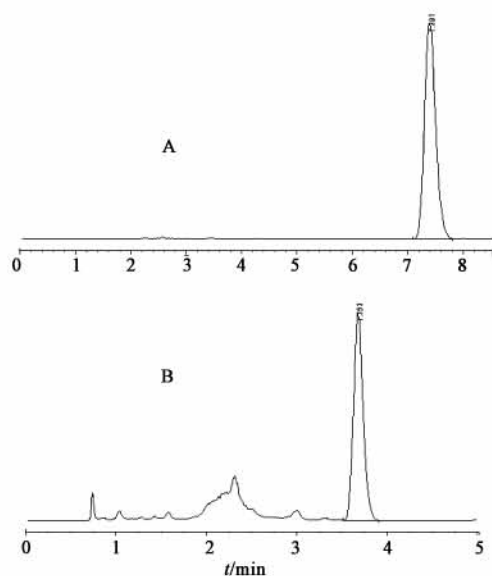


图 1 ELSD 检测器薯蓣皂苷元色谱图  
(A) 对照品; (B) 供试品

**2.3 线性关系考察** 取薯蓣皂苷元对照品储备液( $2.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 分别配制成含薯蓣皂苷元  $2.08, 1.56, 1.04, 0.52, 0.260 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。各吸取  $10 \text{ } \mu\text{L}$  进样测定。以进样量的对数值为横坐标,

峰面积的对数值为纵坐标进行回归, 回归方程为  $Y = 1.0075X + 2.3462, r = 0.99994$ 。薯蓣皂苷元在  $2.60 \sim 20.8 \text{ } \mu\text{g}$  线性关系良好。

**2.4 精密度试验** 取  $10 \text{ } \mu\text{L}$  对照品溶液, 重复进样 6 次, 记录薯蓣皂苷元的峰面积, 结果 RSD  $0.66\%$ , 表明仪器精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 取供试品溶液, 于制备后  $0, 2, 4, 8, 12 \text{ h}$  进样  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , 记录薯蓣皂苷元的峰面积, 结果 RSD  $0.14\%$ , 表明样品溶液在  $12 \text{ h}$  内稳定。

**2.6 重复性试验** 取同一批号样品, 按 2.1 项下方法分别制得 6 份供试品溶液, 进样测定, 结果薯蓣皂苷元的含量为  $1.19\%$ , RSD  $1.76\%$ , 表明实验重复性良好。

**2.7 加样回收试验** 精密称取已知含量( $1.19\%$ ) 的穿山龙 6 份, 分别加入薯蓣皂苷元对照品适量, 按 2.1 项下分别制备供试液, 照 2.2 项下色谱条件测定薯蓣皂苷元的含量, 计算回收率。结果平均回收率为  $97.3\%$ , RSD  $1.94\%$ , 表明本法回收率良好。

**2.8 样品的含量测定** 分别精密吸取薯蓣皂苷元对照品溶液和供试品溶液各  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , 照 2.2 项下色谱条件测定, 计算薯蓣皂苷元的含量, 结果见表 1。

**2.9 紫外检测器实验条件及测定结果** 采用 2005 年版《中国药典》方法, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB- $\text{C}_{18}$  柱( $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ } \mu\text{m}$ ), 流动相为甲醇-水( $84:16$ ), 柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 检测波长为  $203 \text{ nm}$ , 进样量  $10 \text{ } \mu\text{L}$ ; 对照品与样品溶液照 2.1 项下方法制备; 测定结果见表 1。色谱图见图 2。

表 1 不同检测器测定穿山龙中薯蓣皂苷元( $n=3$ ) %

产地	ELSD	DAD	产地	ELSD	DAD
承德县 1	1.27	1.22	围场县	1.20	1.18
承德县 2	1.16	1.12	平泉县	1.17	1.12
丰宁县	1.47	1.40	兴隆县	1.65	1.71
隆化县	1.22	1.16	滦河县	1.32	1.32
滦平县	1.55	1.48	宽城县	1.44	1.37

## 3 讨论

对于穿山龙的研究, 文献<sup>[4]</sup>及 2005 年版药典方法都采用高效液相色谱紫外检测器法测定其中的薯蓣皂苷元, 文献<sup>[5]</sup>测定其中的薯蓣皂苷, 但波长均选择在  $203 \sim 210 \text{ nm}$  的紫外末端进行检测, 影响因素较多; 同时前处理方法采用直接酸水解法, 水解原位萃取法, 超临界萃取法等<sup>[4,6-7]</sup>。本实验采用双相酸水解法处理供试品, 选择蒸发光散射检测器对薯

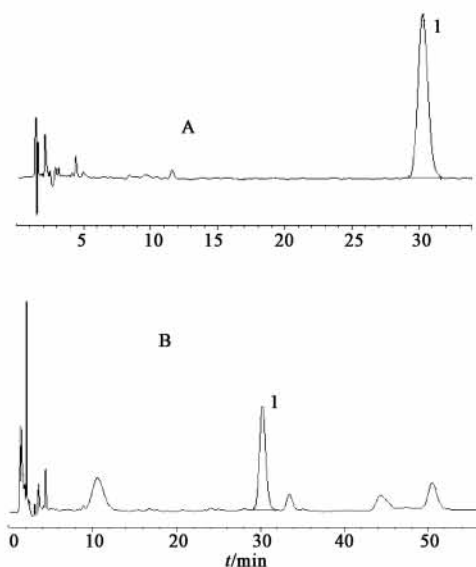


图2 DAD检测器薯蓣皂苷元色谱图  
A. 对照品;B. 供试品;1. 薯蓣皂苷元

薯蓣皂苷元进行分析,对穿山龙的质量控制方法进行了补充。同时比较了用ELSD与DAD法测定的含量,ELSD法测定结果普遍偏高,所得到的图谱基线平直,灵敏度高,分离度好。结果显示本实验方法具有可行性。本实验需改进之处在于应将DAD与

ELSD检测器串联起来,采用同一样品,同一流动相不同检测方法同时测定,结果应更具统计学意义。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:188.
- [2] 杨欢,杨克迪,陈均.双相酸水解法提取薯蓣皂苷元的研究[J].中国现代应用药学杂志,2005,22(4):270.
- [3] 马远涛,王苑桃,拓磊,等.高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定穿山龙中薯蓣皂苷的含量[J].中国医院药学杂志,2007,27(6):771.
- [4] 韩菊,魏福祥,高晓霞,等.反相高效液相色谱法测定穿山龙中的薯蓣皂甙元[J].分析实验室,2009,28(4):63.
- [5] 秦兰艳,贾凌云,孙启时,等.RP-HPLC法同时测定穿山龙中薯蓣皂苷和纤细皂苷的含量[J].沈阳药科大学学报,2007,24(10):627.
- [6] 沈玉萍,杨欢,沙娟.反相高效液相色谱法分析穿山龙中薯蓣皂苷元的含量[J].药物分析杂志,2007,27(5):635.
- [7] 姚丽,刘树民,王加志,等.穿山龙中薯蓣皂苷元提取分离及测定方法研究概况[J].中华中医药学刊,2008,26(1):164.

[责任编辑 蔡仲德]

## 《中国中药杂志》2011年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医药科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、科研院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2011年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。