

高效液相色谱法测定地肤子中地肤子皂苷 Ic 的含量

夏玉凤^{*}, 王 强, 徐德然¹, 汪 豪¹, 叶文才¹, 戴 岳²

(中国药科大学中药分析教研室, 中药学院, 中药药理教研室, 南京 210038)

摘 要 目的 建立地肤子中地肤子皂苷 Ic(Momordin Ic)的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(ELSD)测定了地肤子中 Momordin Ic 的含量,色谱柱: Shimpack CLC-ODS(150 mm×6 mm);流动相: 甲醇-水-冰醋酸(85:15:0.2);流速: 1.0 ml/min; ELSD 参数: 漂移管温度 70℃; 氮气压力: 0.21 MPa。结果 回归方程为 $\log Y = 1.34 \log X + 5.02$, $r = 0.9995$, 分析了 4 批商品药材地肤子中 Momordin Ic 的含量为 0.83%~2.21%; 平均回收率为 98.30%; RSD 为 3.1%。结论 方法快速简便, 重现性良好, 可用于地肤子中皂苷 Ic 的含量测定。

关键词 地肤子; 地肤子皂苷 Ic; 高效液相色谱法; 蒸发光散射检测器

中图分类号: TQ460.7⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)03-0216-03

地肤子为藜科植物地肤 *Kochia scoparia* (L.) Schrad. 的干燥成熟果实, 具有清热利湿、祛风止痒等功效, 用于小便涩痛、阴痒带下、风疹、湿疹、皮肤搔痒等症^[1]。地肤子主要含三萜皂苷、生物碱、黄酮类、脂肪油等成分, 其中地肤子皂苷 Ic(Momordin Ic)为其抗搔痒, 抗炎和抗过敏作用的主要有效成分^[2-3]。目前有关 Momordin Ic 的含量测定方法尚未见报道, 本文拟采用蒸发光散射检测器(ELSD)建立 Momordin Ic 的高效液相色谱检测方法, 并对 4 种地肤子商品药材的 Momordin Ic 含量进行测定。实验结果表明该法分离度好, 精密度、重现性均能满足要求, 可作为一种检测地肤子中皂苷类成分的有效方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10A 液相色谱仪; 法国 SEDEX55 型蒸发光散射检测器; 各批地肤子药材分别购自南京各药房, 均经作者鉴定; 地肤子皂苷 Ic(Momordin Ic)为本校天然药化教研室提供, 纯度 $\geq 98.5\%$; 甲醇为淮阴化学试剂厂产色谱纯; 水为纯净水; 其余所用试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Shimpack CLC-ODS(150 mm×6 mm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(85:15:0.2); 流速: 1.0 ml/min; ELSD 参数: 漂移管温度 70℃; 氮气压力: 0.21 MPa。

3 方法与结果

3.1 溶液的制备

对照品溶液的制备: 精密称取对照品地肤子皂苷 Ic 1.60 mg, 置 5 ml 量瓶中用甲醇溶解定容, 配成 0.32 mg/ml 的溶液。

供试品溶液的制备: 称取经粉碎的地肤子药材约 0.5 g, 精密称定。先以 50 ml 石油醚回流提取 2 h, 过滤, 残渣再以 50 ml 甲醇回流提取 2 h, 过滤, 滤液回收甲醇至干, 残渣用 20 ml 水溶解并转移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇萃取 5 次, 每次 15 ml, 合并正丁醇液, 再用正丁醇饱和的水萃取 3 次, 每次 15 ml, 正丁醇层回收至干, 用甲醇溶解并定容至 10 ml, 临用前再精密吸取 1 ml 于 10 ml 容量瓶中, 甲醇定容, 摇匀即得。

3.2 线性关系 考察

精密吸取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ml, 置于 1 ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样量 20μl, 以对照品峰面积的常用对数值为纵座标, 以进样量(μg)的常用对数值为横座标进行线性回归, 得回归方程为:

$\log Y = 1.34 \log X + 5.02, r = 0.9995$, 线性范围 0.64-6.4 μg。

3.3 进样精密 度试验

精密吸取上述对照品溶液, 连续重复进样 5 次, 每次 20 μl, RSD 为 1.3%。

3.4 重现性 试验

取同一批样品 5 份, 每份约 0.5 g 精密称定, 按“供试品溶液的制备”项下处理并测定, 结果该批地肤子中地肤子皂苷 Ic 平均含量为 1.96%, RSD 为 2.7%。

3.5 回收率 试验

取上述已知含量的地肤子药材样品约 25 mg, 共 5 份, 精密称定, 每份各精密加入浓度为 0.4872 mg/ml 的对照品溶液 1 ml, 按“供试品溶液的制备”项下处理并测定, 结果得平均回收率为 98.30%, RSD 为 3.1%(n=5)。

3.6 样品 测定

取 4 批地肤子药材供试品溶液在上述色谱条件下进样, 每次 20 μl, 按外标两点法对数方程计算, 所得结果见表 1, 样品和对照品色谱图见图 1。

Tab 1. Content of momordin Ic (n=3)

No.	Weight of sample(g)	Content(%)
200003	0.5014	0.83
200010	0.5011	1.97
200106	0.5040	1.94
200108	0.5034	2.21

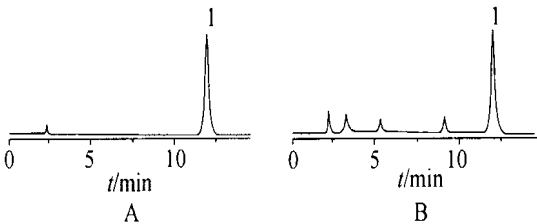


Fig 1. HPLC Chromatograms of *Kochia scoparia*
A. standard; B. sample 1. Momordin Ic

4 讨 论

1)地肤子中所含的地肤子皂苷 Ic 为三萜皂苷类成分, 仅在 200 nm 左右有末端吸收, 因而应用高效液相色谱-紫外检测器进行测定, 操作条件严格, 噪音对结果影响较大, 灵敏度也较低。蒸发光散射检测器(ELSD)为质量型通用检测器, 它的响应取决于被分析物质颗粒的数量和大小。它能用于检测那些不含发色团的化合物, 即它的响应不依赖于样品的光学特性, 任何挥发性低于流动相的样品均能被检测, 不受其它官能团的影响。因此现已成为分析无紫外吸收或紫外吸收差类成分的有力工具。

2)漂移管温度和载气流速(氮气压力)是 ELSD 的两个重要参数。漂移管温度高时, 由于分析样品部分挥发而导致质粒挥发, 使检测器响应下降; 温度低时, 溶剂挥发不够完全而导致基线不稳。当载气流速太低时会形成大量微滴, 从而导致尖峰或噪音信号; 载气流速太高时微滴会大量下降, 导致信号响应降低。通过试验, 在本文色谱条件下, 选择最佳漂移管温度为 70℃; 载气流速(氮气压力)为 0.21MPa。

3)含量测定结果表明, 各批地肤子药材中地肤子皂苷 Ic 含量有一定差异, 是否与药材来源产地、收购时间有关, 有待于今后实验进一步验证。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 93.
[2] Kubo M, Matsuda H, Dai Y, et al. Studies on *Kochiae Fructus* I. Antipruritogenic effect of 70% ethanol extract from *Kochiae Fructus* and its active component[J]. *Yakugaku Zasshi*, 1997, 117(4): 193-201.
[3] Matsuda H, Dai Y, et al. Studies on *Kochiae Fructus* III. Antinociceptive and antiinflammatory effects of 70% ethanol extract and its component, momordin Ic from dried fruits of *Kochia scoparia* L. [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(10): 1086-1091.
[4] Matsuda H, Dai Y, et al. Studies on *Kochiae Fructus* IV. Anti-allergic effects of 70% ethanol extract and its component, momordin Ic from dried fruits of *Kochia scoparia* L. [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(11): 1165-1170.
[5] Matsuda H, Dai Y, et al. Studies on *Kochiae Fructus* V. Antipruritic effects of oleanolic acid glycosides and the structure-requirement [J]. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21(11): 1231-1233.

Determination of the Content of Momordin Ic in *Kochia Scoparia* by HPLC

XIA Yu-Feng, WANG Qiang, XU De-Ran¹, WANG Hao¹, YE Wen-Cai¹, DAI Yue²
Department of Chinese Materia Medica Analysis,¹ College of Chinese Materia Medica,² Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038

ABSTRACT **AIM** The purpose is to develop a method for determining the content of Momordin Ic in *Kochia Scoparia*. **METHODS** ELSD was used to determine the content of momordin Ic in *Kochia Scoparia*. The separation was performed on Shimpack CLC-ODS column with MeOH-H₂O-HOAc(85:15:0.2) as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min. **RESULTS** The regression equation of momordin Ic was $\log Y = 1.34 \log X + 5.02$, ($r = 0.9995$). The content of Momordin Ic was 0.83%~2.21% in four kinds of marketed *Kochia Scoparia*. The average recovery was 98.30% with RSD 3.1%. **CONCLUSION** The method was quick and convenient with a good reproducibility.

KEY WORDS *Kochia Scoparia*; Momordin Ic; HPLC; ELSD

中国药科大学最新科研合作项目(西药)

- 一、西药二类
1. 新的抗组胺药物——德雷他定
2. 抗精神病药物 Olanzapine
3. 抗肿瘤新药——托穆戴克斯 (Tomudex)
4. 双胺心安的合成
5. 抗癫痫新药非氨酯
- 二、西药四类
1. 结肠定位给药系统——新型辅料 (国家“九五”公关课题)
2. 阿昔洛韦复乳
3. 法莫替丁脉冲释药系统
4. 阿米卡星脂质体
5. 酮基布洛芬分散片
6. 扑热息痛分散片
7. 环孢菌素片、胶囊、颗粒剂
8. 雷尼替丁缓释片
9. 阿齐霉素咀嚼片
10. 阿齐霉素口服糖浆片
11. 洛美沙星有机酸盐原料及注射剂
12. 24 h 抗炎镇痛药(缓释)
13. 妇用抗炎泡腾片
14. 抗心绞痛缓释片(24 h 缓释)
15. 富马酸亚铁肠速释片
16. 丁胺卡那霉素脂质体(固体)
17. 地尔硫卓 24 h 控释片
18. 盐酸地尔硫卓定时释放片
19. FQ-50 凝胶剂
20. 布洛芬胶丸
21. 保胆健素胶丸
22. 尼索地平胶丸
23. 愈创木酚甘油醚胶丸
24. 愈创木酚甘油醚茶碱胶丸
25. 愈创木酚甘油醚盐酸伪麻黄碱胶丸
26. 对乙酰氨基酚盐酸伪麻黄碱胶丸
27. 盐酸伪麻黄碱马来那敏对乙酰氨基酚胶丸
28. 盐酸伪麻黄碱扑尔敏对乙酰氨基酚美沙芬胶丸
29. 盐酸苯海拉明胶丸
30. 美沙芬胶丸
31. 盐酸雷尼替丁胶丸
32. 地高辛胶丸
33. 碳酸钙胶丸
34. 白加黑胶丸
35. 醋酸甲羟孕酮胶丸
36. 氟康唑胶丸及混悬剂
37. 头孢呋新酯混悬剂
38. 醋酸甲地孕酮混悬剂及注射剂
39. 马来酸噻吗洛尔经皮贴剂的研究
40. 吡罗昔康控释片及注射剂
41. Vox 抗高血压微丸剂
42. 百确安
43. 瑙康施
44. 欣德疏-24
45. 胃安乐缓释片
46. 钙立定
47. 替硝唑纸型片(或粘附片)
48. 单硝酸异山梨酯气雾剂
49. 单硝酸异山梨酯口服液
50. 抗真菌眼药水
51. 镇痛消炎涂膜剂
52. 酮基布洛芬涂膜剂
53. 酮康唑涂剂
54. 治疗牙周袋长效释药药线
55. 口服降糖药格列美脲
56. 滴眼液(V-rohto EX)
57. Roladis 片剂与水剂