

17(11): 7-8.

[10] 刘建武. 妇科千金片薄膜包衣的工艺研究[J]. 中成药, 1994, 16(9): 4-5.

[11] 安富荣, 张楠林, 王平金. 甲壳胺作为药用辅料的应用发展[J]. 中国药房, 1999, 10(6): 281-283.

[12] 赵志春, 俞惠琴, 陆克平, 等. 中药制剂中川芎嗪含量的高效液相色谱法测定[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(12): 729-730.

[13] 俞曼雷, 谢德峰, 胡馨, 等. 高效液相色谱法测定银杏叶制剂中黄酮甙含量[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(1): 46-47.

[14] 宋莉, 李康乐, 马耀忠, 等. 克泻灵片中苦参碱类生物碱的 HPLC 分析[J]. 中国现代应用药学, 1998, 15(6): 38-39.

[15] 苏流坤, 胡英杰, 符林春, 等. 反相 HPLC 法测定鱼腥草及其制剂中槲皮甙的含量[J]. 中国新药与临床药理, 1999, 10(4): 232-233.

[16] 项进, 郭萍. 小柴胡汤颗粒剂中柴胡皂甙的高效液相色谱分析[J]. 中国现代应用药学, 1998, 15(1): 38-40.

[17] 赵岚. HPLC 法测定凉鲜感冒合剂中牛蒡子苷的含量[J]. 现代应用药学, 1997, 14(1): 47-48.

[18] 洪馨, 宓穗卿. 心脉安颗粒剂质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(4): 228-230.

[19] 王桂芳, 张守尧, 朱素琴. 北细辛中非挥发性成分芝麻脂素和细辛脂素的含量测定[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 251-253.

[20] 薛燕, 周同惠, 王小民. 用 LC/MS/MS 和 RP-HPLC 法对泻心汤煎煮产生的沉淀物的研究[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 224-226.

[21] 国家药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求[J]. 中成药, 2000, 22(10): 671-675.

[22] 洪筱坤, 王智华. 色谱指纹谱在中药质量标准研究中的应用[J]. 中成药, 2001, 23(3): 157-159.

HPLC-蒸发光散射检测法在中药及其复方制剂检测中的应用

寿国香, 刘冰, 郝连淑

(天津市药品检验所, 天津 300070)

中图分类号: R 282. 022

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2670(2001) 10 - 0958 - 02

蒸发光散射检测器(Evaportive Light Scattering Detector, 简称 ELSD)是一种通用检测器, 首先是由澳大利亚的 Union Carbide 研究室开发的, 80 年代后期广泛用于 HPLC 色谱、超临界色谱和逆流色谱中。ELSD 最大的优越性在于能检测不含发色团的化合物, 因而极大地拓宽了 HPLC 在中药及其复方制剂检测中的应用。作为新一代通用型检测器, 与示差折光检测器相比较具有以下显著优点: 1) 灵敏度高, 能排除流动相的干扰; 2) 不受温度变化的影响, 也就消除了流动相因温度波动而产生的误差; 3) 可进行梯度洗脱。ELSD 在我国应用于中药及其复方制剂检测是在 90 年代后期。1994 年邓海根等^[1]介绍了该仪器的其本结构和工作原理。冯埃生等^[2]考察了 ELSD 检测的基本因素。

1 应用实例

1.1 人参皂苷类的测定: Park^[3]用带有 ELSD 的 HPLC 分析人参皂苷。将样品(白参或红参)以甲醇回流提取 6 h, 真空蒸干溶剂残渣用乙醚和水分配, 水层用水饱和的正丁醇提取, 正丁醇部分真空干燥, 残渣溶于甲醇用于 HPLC 分析。人参皂苷的分离用 NH₂ 柱, 梯度洗脱程序为 A[CH₃CN-水-异丙醇(80 5 15)] 和 B[CH₃CN-水-异丙醇(80 20 15)]: 0 ~ 7 min, 80% A + 20% B; 7 ~ 25 min, 从 80% A + 20% B 至 10% A + 90% B 线性梯度; 25 ~ 40 min, 10% A + 90% B。流速为 1.0 mL/min。最佳的漂移管温度为 145 , 洗脱在 35 min 内完成。本法在灵敏度和分离方面优于 HPLC-UV 法, 最重要的优点是以梯度洗脱在一次操作中可

分析所有主要的人参皂苷。

汤俊等^[4]测定西洋参中拟人参皂苷 F11 含量。色谱条件: Platinum C₁₈ 色谱柱, 乙腈-水(30 70)为流动相, 并优化选择了 ELSD 参数: 最佳的漂移管温度为 107 , 最佳的流速为 2.26 L/min, 结果拟人参皂苷 F11 在 2.192 ~ 10.96 μg 范围内呈良好线性($r = 0.999\ 2$, $n = 5$), 回收率为(102.6 ± 4.1)%, 该法精密度、重现性良好。

江英桥等^[5]测定三七中人参皂苷 R_{g1} 的含量。色谱条件: CLC-ODS(6.0 mm × 150 mm)色谱柱, 乙腈-水(30 70)为流动相, 柱温 45 , 流速为 0.5 mL/min, ELSD 参数: 漂移管温度为 90 , 载气压力为 0.20 MPa。该定量法简便, 准确回收率为 100.50%, RSD 为 1.44%。

1.2 银杏内酯的测定: 田南卉等^[6]测定了银杏叶提取物中内酯的含量。色谱条件: Alltech Platinum-ODS(4.6 mm × 250 mm) 5 μm 色谱柱, 流动相: 水-甲醇-四氢呋喃(75 20 10)为流动相, 柱温为室温, 流速: 1 mL/min, ELSD 参数: 漂移管温度为 105 , 载气流速为 2.75 L/min。采用上述色谱条件, 银杏苦内酯 A、B、C 及白果内酯可得到很好的分离。结果表明, 不同的银杏叶提取物中银杏苦内酯 A、B、C 及白果内酯的比例和其总量均存在较大的差别。

1.3 黄芪甲苷的测定: 赵灵芝等^[7]以黄芪甲苷()为对照品, 对黄芪()中的 进行 HPLC 分析, 色谱条件: ELite ODS 色谱柱, 流动相: 乙腈-水(36 64)为流动相, 流速: 0.8 mL/min, ELSD 参数: 漂移管温度为 100 , N₂ 流速为 2.74

L/min。结果:按选定的色谱条件进行测定,平均加样回收率达 97.43%,*RSD* 为 1.57%。实验还发现在几种前处理方法中,不用氨水洗涤者所测含量远远低于用氨水洗涤者(药典法和本实验所采用的方法),HPLC-ELSD 法简便、快捷,无干扰,重现性好,可用于 中 的含量测定;应重视样品前处理方法对含量测定影响。田南卉^[8]和周春玲^[9]等也用该法对黄芪甲苷测定作了新的探索。

1.4 山麦冬皂苷 B 的测定:吴弢等^[10]采用 ELSD 测定了湖北麦冬中山麦冬皂苷 B 的含量,色谱条件:Alltech Versapack-ODS 色谱柱,流动相:乙腈-四氢呋喃-水(45.6 2.9 51.5),流速:0.7 mL/min,ELSD 参数:漂移管温度为 93.18 ,N₂ 流速为 2.47 L/min,结果表明,ELSD 是皂苷类化合物较为适宜的检测器。经对不同采收期样品的含量考察,认为湖北麦冬的最佳采收期与传统采收期(清明)相一致。

1.5 贝母甲素的测定:朱丹妮等^[11]采用 HPLC-ELSD 检测法,分析测定贝母类药材中生物碱成分。色谱条件:Silica 5 μ m(4.6 mm $\times$ 250 mm) 色谱柱,流动相:A. 环己烷-乙酸乙酯-二乙胺(6 4 1),B. 环己烷-乙酸乙酯-二乙胺(6 4 0.12),流速 1.0 mL/min,以 ELSD-500 为检测器,ELSD 参数:漂移管温度为 90 ,N₂ 流速为 1.87 L/min,外标法定量。结果:贝母甲素在 0.75 ~ 3.00 μ g 范围内呈线性,回收率为 97.21% ($n = 5$),*RSD* = 1.58%。5 种不同贝母药材的 HPLC 图谱有明显差异,该法为良好的测定贝母甲素的方法,可用于贝母药材的质量监控。

1.6 胆固醇、各种胆汁酸的测定:冯芳等^[12]用 RP-HPLC-ELSD 测定了人工牛黄中多组含量,色谱条件:Waters Nova-Pak C₁₈ 不锈钢柱(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm),柱温为室温,甲醇-水-冰醋酸(80 20 0.01)为流动相,流速:1.0 mL/min。ELSD 参数:漂移管温度 105 ,雾化气体(N₂) 流速:2.05 L/min。在选定色谱条件下,胆固醇、各种胆酸及无机盐在室温下可达很好分离,胆酸与猪去氧胆酸的非衍生分离尚属首次。结论:ELSD 与 HPLC 联用可使不含生色团物质的分离分析更为准确、灵敏,可为人工牛黄的质量控制提供更为科学的依据。

1.7 酸枣仁皂苷 A 及 B 的测定:李会军等^[13]用 RP-HPLC-ELSD 测定酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 及 B 的含量。色谱条件:Water Nova-Pak C₁₈ 不锈钢柱(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm),柱温:室温,流动相:甲醇-水-冰醋酸(80 20 0.01),流速:1.0 mL/min。ELSD 参数:漂移管温度 75 ,雾化气体(N₂) 压力:0.21 MPa。结果在选定色谱条件下,分析了 11 批商品药材,酸枣仁皂苷 A 及 B 的平均回收率分别为 92.4% (*RSD* = 33.8%)和 91.8% (*RSD* = 3.9%)。

1.8 七叶皂苷钠的测定:李菁^[14]应用 HPLC-ELSD 法控制

七叶皂苷钠注射液的内在质量,该方法直观可靠,色谱条件:美国 SUPELCO 公司的 DiscoverTM C₁₈ 色谱柱(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm),柱温为室温;流动相:乙腈-0.05% 三氟醋酸(36 64),流速:1.0 mL/min。ELSD 参数:漂移管温度为 110 ,载气流速为 3.0 L/min。

2 小结

在中药检测中,由于部分指标成分或有效成分仅有紫外末端吸收或无紫外吸收,检测时受到了限制,又由于某些仅有紫外末端吸收或无紫外吸收的有效成分在中药复方制剂中常作为君药的有效成分被指定为含量测定项的必检指标成分。例如:人参中的人参皂苷,黄芪中的黄芪甲苷等。由于使用 HPLC-UV 或其他检测方法的前处理步骤多,重现性较差,排除干扰较困难,使检测工作者在制定质量标准中感到棘手。而 ELSD 恰恰在这方面有着其独到的优越性和广泛的应用前景,相信在不远的将来,ELSD 定会更广泛地用于中药材和中药复方制剂检测的各个方面。

参考文献:

- [1] 邓海根,曹雨震. 高效液相色谱仪的通用型质量检测蒸发光散射检测器(ELSD)[J]. 药物分析杂志, 1994, 14(3): 61-63.
- [2] 冯埃生,邹汉法,汪海林. 影响高效液相色谱-蒸发光散射检测器检测性其本因素的考察[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(6): 414-417.
- [3] Park M K. 用带有蒸发光散射检测器的 HPLC 分析人参皂苷[J]. Chromatogr A, 1996, 736 (1/2): 77-81.
- [4] 汤俊,鲁静. 应用 HPLC/ELSD 法测定西洋参中拟人参皂苷 F11 含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 241-243.
- [5] 江英桥,王强. HPLC-ELSD 及紫外分光光度法测定三七中皂苷的含量[J]. 中草药, 2000, 31(10): 737-739.
- [6] 田南卉,王协,厉进忠,等. 高效液相色谱法-蒸发光散射检测器测定银杏叶提取物中内酯的含量[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(4): 282-283.
- [7] 赵灵芝,朱丹妮,严永清. HPLC-ELSD 法测定黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(6): 403-406.
- [8] 田南卉,张鲤,杨国红. 高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定黄芪和制中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(3): 199-200.
- [9] 周春玲,鲁静. 高效液相色谱-蒸发光散射检测测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(3): 166-168.
- [10] 吴弢,余伯阳,程志红,等. HPLC-ELSD 法测定湖北麦冬中主要皂苷的含量[J]. 中草药, 2000, 31(3): 175-177.
- [11] 朱丹妮,谭丰萍,高山林. HPLC-ELSD 分析测定贝母类药材中生物碱成分[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 87-91.
- [12] 冯芳,马永建,陈明,等. 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时测定人工牛黄中多组含量[J]. 药学报, 2000, 35(3): 216-219.
- [13] 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.
- [14] 李菁. HPLC-ELSD 法在注射用七叶皂苷钠质量控制中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(8): 582-583.