

不受梯度洗脱的影响, 较 HPLC-UV 优越。

2.3 标准曲线和线性范围: 精密吸取上述对照品溶液 5、10、15、20、25、30 μL , 在上述 HPLC-ELSD 色谱条件下进样, 以峰面积(Y)为纵坐标, 进样量(X)为横坐标作标准曲线, 回归方程和线性范围见表 1。

表 1 各组份的回归方程和线性范围

Table 1 Standard curves equation and relevant data of ginsenosides Rb₁, Rc, and Rb₃

人参皂苷	回归方程	r	线性范围/ μg
Rb ₁	$Y = 217.38X + 34.789$	0.998 8	1.75~10.50
Rc	$Y = 87.116X + 25.201$	0.999 1	5.0~30.0
Rb ₃	$Y = 134.83X + 21.033$	0.999 7	3.75~22.50

2.4 精密度试验: 取上述对照品溶液重复进样 6 次, 测得人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 峰面积的 RSD 分别为 0.52%、0.23%、0.16%。

2.5 稳定性试验: 取上述对照品溶液, 每隔 30 min 进样, 连续 4 h, 结果 4 h 内人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 的峰面积积分值基本稳定, 峰面积的 RSD 分别为 1.5%、1.9%、0.8%。

2.6 重现性试验: 取三七叶总皂苷样品(批号: 20010901)共 5 份, 制备供试品溶液, 测得人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 的质量分数的 RSD 分别为 1.9%、2.8%、2.2%。

2.7 加样回收率试验: 取已知含量的三七叶总皂苷样品 0.050 g, 分别添加人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 对照品溶液 1 mL, 一式 5 份, 按 2.1.2 项下处理并测定, 结果测得平均回收率分别为 99.21%、97.32%、98.25%, RSD 分别为 2.1%、1.9%、2.9%。

2.8 样品测定: 按上述方法对不同批号的三七叶苷进行了含量测定, 结果见表 2。

3 讨论

表 2 样品含量的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of samples' determination ($n=3$)

批号	人参皂苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)			
	Rb ₁	Rc	Rb ₃	总量
20010901	25.8	128.6	127.8	282.2
20010902	31.6	130.7	140.3	302.6
20010904	27.7	129.1	129.9	286.7

3.1 在三七叶总皂苷中人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 为三萜皂苷成分, 仅在 200 nm 左右有末端吸收, 因此采用 HPLC-UV 进行测定时, 噪音对结果影响较大, 灵敏度也较低。蒸发光散射检测器为质量型通用检测器, 其响应值取决于被分析物质颗粒的数量和大小, 能用于检测那些不含发色团的化合物, 即响应不依赖样品的光学特性, 任何挥发性低于流动相的样品都能被检测。

3.2 提取溶剂的选择: 取三七叶总皂苷适量, 分别用甲醇、75%乙醇、水饱和正丁醇溶液 3 种提取溶剂提取, 按前述方法进行测定, 结果表明, 3 种提取溶剂提取后测得的人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rb₃ 的含量几无差别, 说明 3 种提取溶剂都可以选用。由于甲醇提取后制备的供试品溶液杂质含量少, 干扰小, 处理方便, 所以选择甲醇作为提取溶剂。

3.3 超声时间比较试验: 取三七叶总皂苷适量, 按前供试品溶液制备方法制备, 曾比较超声时间: 10、20、30、40、50 min, 发现 10 min 即将三七叶总皂苷中的有效成分提取完全。

References

- [1] Chen D C. *The Manual of Chemical Reference Substance on Chinese Medicine*. (中药化学对照品工作手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2000.
- [2] *Drug Standard in Yunnan Province* (云南省药品标准) [S]. Q/W S 784-1985, 1985

HPLC-ELSD 法测定银杏叶提取物中内酯的含量

单鸣秋, 张 丽, 曹雨诞*

(南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

银杏叶为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶, 味苦涩、性平, 有毒, 归肺经, 是传统的止咳平喘药。明代李时珍《本草纲目》即有记载。银杏叶主要含有银杏黄酮及内酯等成分, 具有收敛定喘、止

带缩尿之功效, 主治哮喘痰嗽、带下白浊、小便频数、遗尿等, 用于肺虚咳喘以及高血压、冠心病心绞痛、脑血管痉挛等的治疗。银杏叶提取物常用的质量控制指标是黄酮和银杏内酯^[1,2]。因银杏内酯紫外吸收

* 收稿日期: 2004-02-26

作者简介: 单鸣秋(1978—), 男, 江苏南京人, 中药硕士, 从事分析化学教学及药品质量研究。

较弱,故本实验通过 HPLC-ELSD 方法对银杏叶提取物中内酯类成分进行测定,以期对银杏叶提取物的质量控制提供更多的检测手段。

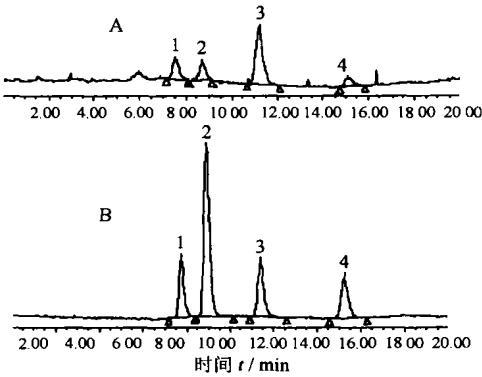
1 仪器与试剂

美国 Waters 公司 515 型高效液相色谱仪,Alltech 蒸发光散射检测器,Millennium³² 色谱软件系统, H66025T 型超声清洗机(无锡超声电子设备厂), BW T550 型石英亚沸高纯水提取器(江苏金坛高教仪器厂), LBROR A EL—40SM 电子分析天平(精确到 0.000 01 g) 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 四氢呋喃为分析纯。

银杏叶提取物(广东天之骄药物开发有限公司提供,批号: 03031300、03031301、03031315); 银杏内酯 A (GA, 批号: 0862-9903)、银杏内酯 B (GB, 批号: 0863-9902)、银杏内酯 C (GC, 批号: 0864-9902)、白果内酯(Bb, 批号: 0865-9601) 对照品均购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3]: 色谱柱: Nucleosil C₁₈ 反相柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水-甲醇-四氢呋喃(75 : 20 : 10); 体积流量: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL; 蒸发光散射检测器, 漂移管温度: 110 °C; 载气流速: 2.75 SLPM; 柱温: 30 °C。在此条件下 GA、GB、GC、Bb 与其他组份基本达到基线分离。见图 1。



1-银杏内酯 C 2-白果内酯 3-银杏内酯 A 4-银杏内酯 B
1-ginkgolide C 2-bilobalide 3-ginkgolide A 4-ginkgolide B

图 1 对照品(A)和银杏叶提取物(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and G. biloba leaf extract (B)

2.2 提取条件的选定: 银杏提取物在流动相中溶解性较好,故以流动相即水-甲醇-四氢呋喃(75 : 20 : 10)溶解即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取经 60 °C 干燥后的银杏叶粉末(过 20 目筛)约 20 mg, 精密称定, 置 5 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 微孔滤膜(0.45 μm)滤

过, 即得。
2.4 线性关系考察: 精密称取 Bb 对照品 4 mg, GA、GB、GC 对照品 2 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。按上述色谱条件分别进样 4、8、12、16、20 μL, 各两次, 记录峰面积, 以峰面积的对数值为(Y)纵坐标, 以 GA、GB、GC、Bb 的质量的对数值为(X)横坐标, 计算回归方程, 结果见表 1。

表 1 线性范围及回归方程

Table 1 Linearities and regression equation			
成分	标准曲线方程	r	线性范围/μg
银杏内酯 A	$Y = 1.4549X + 5.5888$	0.9992	0.82~4.10
银杏内酯 B	$Y = 1.2912X + 5.1160$	0.9993	0.76~3.80
银杏内酯 C	$Y = 1.5792X + 5.7111$	0.9999	0.77~3.84
白果内酯	$Y = 1.5582X + 5.6593$	0.9995	1.60~8.02

2.5 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 12 μL, 重复进样 6 次, GA、GB、GC、Bb 的峰面积的 RSD 分别为 2.05%、1.09%、3.05%、1.46% (n=6)。

2.6 稳定性试验: 取批号为 03031300 的样品制备供试品溶液, 分别于 0、1、3、5、7、9 h 各测定 1 次, 进样 20 μL, 记录峰面积, 计算, 结果 GA、GB、GC、Bb 的峰面积的 RSD 分别为 2.51%、2.32%、2.79%、1.90% (n=6)。表明供试品溶液在 9 h 内是稳定的。

2.7 重现性试验: 取批号为 03031300 的粉末 5 份, 每份 20 mg, 制备供试品溶液。依法测定, 计算各成分的含量, 结果样品中 GA、GB、GC、Bb 的平均质量分数分别为 31.41%、13.19%、19.80%、45.12 mg/g, RSD 分别为 2.19%、1.58%、2.57%、1.87% (n=5)。

2.8 回收率试验: 取批号为 03031300 的样品粉末 6 份, 每份 10 mg, 精密称定, 置于 5 mL 量瓶中, 分别精密添加混合对照品溶液 1 mL, 用流动相溶解并稀释至刻度, 依法测定, 计算回收率。结果 GA、GB、GC、Bb 的平均回收率分别为 98.32%、99.79%、102.16%、101.50%, RSD 分别为 3.11%、2.79%、2.35%、2.76%。

2.9 样品的测定: 精密吸取供试品溶液 20 μL 进样, 各两次, 依法测定, 计算样品中 GA、GB、GC、Bb 的含量, 测定结果见表 2。

表 2 银杏叶提取物中内酯的含量测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of lactones in G. biloba leaves extract (n=3)				
批号	银杏内酯 A (mg·g ⁻¹)	银杏内酯 B (mg·g ⁻¹)	银杏内酯 C (mg·g ⁻¹)	白果内酯 (mg·g ⁻¹)
03031300	32.35	13.04	19.58	45.61
03031301	31.74	12.34	19.73	48.62
03031315	35.63	17.34	25.28	42.24

3 讨论

3.1 由于银杏中内酯类成分在紫外光区吸收小, 检测灵敏度低, 因此本实验采用 HPLC-ELSD 法进行测定。但 ELSD 的信号响应不同于紫外检测器, 其信号与浓度间的关系不是直接成线性, 而是成对数线性关系, 本实验的结果也证实了该理论。

3.2 从实验结果可以看出, 同一提取物不同批号之间银杏内酯类成分的含量有比较大的差别, 说明对原料必须有更严格的控制, 从药材的采集到原料的提取, 都需制定严格统一的标准, 以保证质量。

3.3 ELSD 的使用应注意所用流动相的蒸发残渣及载气的含水量, 其中四氢呋喃对内酯类成分的分

离起了很好的作用, 但其量的增加会使检测器噪音增大, 检测灵敏度降低。

3.4 方法学考察结果显示该方法准确度高, 专属性强, 灵敏度及稳定性均较好, 测定方法可靠, 测定结果能客观反映银杏提取物的内在质量。

References

- [1] Wang H, Chen S Z, Zhao G B, *et al.* Analysis of the factors that affected active ingredients from *Ginkgo* leaves [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (8): 631-633.
- [2] Li C Y. Research development of *Ginkgo* [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 1993, 14 (5): 270-272.
- [3] Lu F S, Chen W, Feng F, *et al.* The contents of terpenelactones in the *Ginkgo* injection [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(1): 34-36.

毛细管气相色谱法测定枳实及其提取物中有机氯农药残留量

惠玉虎, 王让成*

(西安皓天生物工程技术有限责任公司, 陕西 西安 710075)

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的幼果。其中主要含有生物碱、黄酮、挥发油。枳实及其提取物中的生物碱辛弗林、N-甲基酪胺等成分具有强心、升压及对外周血管等多种功能与作用^[1]。有机氯农药在我国已禁用多年, 但由于它性质稳定, 在环境中可以存在几年甚至几十年。因此, 测定枳实及其提取物中的有机氯农药残留量具有十分重要的意义。本实验对枳实及其提取物中有机氯农药残留测定方法进行了研究^[2,3]。结果表明, 该方法易于操作, 重现性好, 可用于枳实及其提取物中的有机氯农药残留量测定。

1 材料与仪器

试剂均为分析纯, 水为二次重蒸馏水。α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP'DDE、PP'DDD、OP'DDT、PP'DDT、PCNB (纯度大于 99%) 由国家标准物质研究中心提供。枳实为广西、湖南产, 由西安天诚医药生物工程有限公司崔树玉博士鉴定, 提取物由西安天诚医药生物工程有限公司生产。

GC—14B 带 ECD 电子捕获检测器的气相色谱仪 (日本岛津), KQ—250 型超声波清洗器 (江苏昆山超声仪器公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 毛细管色谱柱 Supelco PTE-5 (30

m × 0.25 mm × 0.25 mm, 美国 Supelco 公司); 汽化室温度: 230 ; 检测器温度: 290 ; 柱温为程序升温, 初始 100 , 保持 0.5 min, 25 /min 升至 270 , 保持 5 min; 进样量: 2 μL; 进样方式为不分流进样; 载气为高纯氮, 体积流量为 2 mL/min; 尾吹气为高纯氮, 体积流量为 20 mL/min。在上述色谱条件下, 理论塔板数按 α-BHC 峰计算不低于 5 × 10⁵ 两个相邻色谱峰分离良好。

2.2 对照品储备液的制备: 分别精密称取 α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP'DDE、PP'DDD、OP'DDT、PP'DDT、PCNB 对照品适量于 100 mL 量瓶中, 加入少量苯溶解后, 用石油醚配制成质量浓度分别为 1.06、1.00、1.16、1.12、1.06、1.09、0.99、0.95、1.07 mg/mL 的对照品储备液。

2.3 混合对照品溶液的制备: 分别精密量取 α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP'DDE、PP'DDD、OP'DDT、PP'DDT、PCNB 对照品储备液适量于 100 mL 量瓶中, 加石油醚至刻度, 制成质量浓度分别为 0.79、1.49、0.86、0.83、1.58、1.62、1.48、1.42、0.80 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 标准曲线的绘制: 分别精密量取混合对照品溶液 0.10、0.15、0.20、0.50、1.00 mL 于 10 mL 量瓶中, 加石油醚至刻度, 进样测定, 进样量 1 μL, 分别以