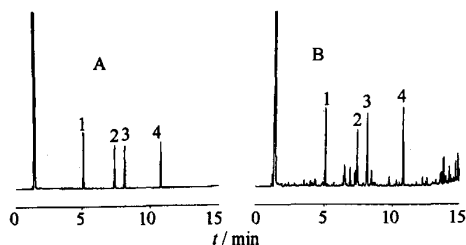


量瓶中,加正己烷稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 μ L 进样测定,按外标法计算,色谱图见图 1,结果见表 1。



1-桉油精 2-樟脑 3-龙脑 4-醋酸龙脑酯
1-eucalyptol 2-camphor 3-borneol 4-bornyl acetate

图 1 混合对照品(A)和菊花挥发油(B)的气相色谱图

Fig. 1 GC Chromatograms of mixed reference substance (A) and *C. marifolium* volatile oil (B)

3 讨论

菊花挥发油的成分复杂,传统填充柱对各成分间不能完全分离,分别采用毛细管柱DB-1、DB-5,

表 1 菊花挥发油中桉油精、樟脑、龙脑和醋酸龙脑酯的测定结果

Table 1 Determination of eucalyptol, camphor, borneol, and bornyl acetate in *C. morifolium* volatile oil

批号	桉油精/ (mg · g ⁻¹)		樟 脑/ (mg · g ⁻¹)		龙 脑/ (mg · g ⁻¹)		醋酸龙脑酯/ (mg · g ⁻¹)	
	以挥发 油计	以生 药计	以挥发 油计	以生 药计	以挥发 油计	以生 药计	以挥发 油计	以生 药计
20041025	31.28	15.64	18.23	9.12	60.96	30.48	52.87	26.44
20050924	35.84	21.50	22.75	13.65	65.87	39.52	56.48	33.89
20051010	36.12	21.67	23.41	14.05	67.24	40.34	26.87	16.12

以及不同程序升温进行测定,结果以毛细管柱 DB-1 和程序升温条件分离效果好,但由于成分复杂,无法插入内标物,只好以外标法定量。

References:

- [1] Chang X Q, Ding L X. *Manual of Analysis of Active Component in Chinese Nateria Medica* (中药活性成分分析手册) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 2002.
- [2] Wang C X. Review of the chemical constituents in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27 (3): 224.

HPLC-ELSD 法测定复方扶芳藤合剂中黄芪甲苷

吴玉强¹, 罗 轶²

(1. 广西中医学院制药厂, 广西 南宁 530023; 2. 广西壮族自治区食品药品检验所, 广西 南宁 530021)

复方扶芳藤合剂由扶芳藤、黄芪、红参等组成, 具有益气补血, 健脾养心之功效。用于气血不足, 心脾两虚, 症见气短胸闷, 少气懒言等症。其质量标准采用的是薄层扫描法。为了有效地控制该产品的质量, 本实验以黄芪甲苷为质量指标, 采用 HPLC-ELSD 法进行检测并制定本品的质控标准。

1 仪器与试剂

美国 Waters2695 高效液相色谱仪, Alltech2000 ELSD 检测器, MILLI-Q Labo 超纯水处理器。黄芪甲苷对照品由中国药品生物制品检定所提供, 批号 0781-200111。乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 其他试剂均为分析纯。复方扶芳藤合剂及缺黄芪阴性样品均由广西中医药学院制药厂提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈-水 (33 : 67); 体积流

量: 0.8 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C, 进样量: 20 μ L; ELSD 参数: 漂移管温度 109 $^{\circ}$ C, 气体流量 2.8 L/min。在以上色谱条件下, 黄芪甲苷峰保留时间约为 20 min, 见图 1。

2.2 供试品溶液的制备: 取装量项下的本品, 混匀, 精密量取 15 mL, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 第一次用 30 mL 轻轻振摇, 其余每次用 25 mL 用力振摇, 合并正丁醇提取液, 用 1% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次, 每次 25 mL, 弃去 1% 氢氧化钠溶液, 再用正丁醇饱和的水洗涤 3 次, 每次 25 mL, 正丁醇液浓缩至干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的黄芪甲苷对照品 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 中含黄芪甲苷 200 μ g); 再精密量取上述黄芪甲

收稿日期: 2005-11-01

作者简介: 吴玉强 (1970—), 男, 广西南宁人, 广西中医学院制药厂药研所所长, 工程师, 从事药品生产、教学、科研工作。

Fax: (0771) 5855189 E-mail: wyqiang@tom.com

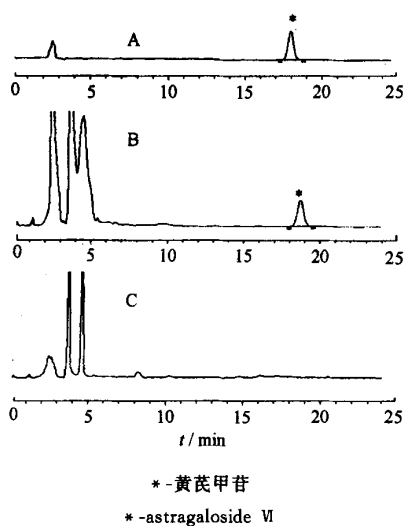


图 1 黄芪甲苷对照品(A)、复方扶芳藤合剂(B)和缺黄芪的阴性样品(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of astragaloside IV reference substance (A), Compound Fufangteng Mistura (B), and negative sample (C)

苷对照品溶液 2 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 中含黄芪甲苷 80 μg)。

2.4 线性关系考察: 精密称取黄芪甲苷对照品 10.25 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。分别精密吸取以上对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 分别置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 20 μL , 测定。以对照品进样量(μg)的常用对数值为横坐标, 峰面积积分值的常用对数值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=1.5880X+5.5450$, $r=0.9993$; 结果表明: 黄芪甲苷在进样量 0.82~4.10 μg 时线性关系良好。

2.5 干扰试验: 按处方量, 取缺黄芪的阴性样品, 按供试品溶液制备项下的方法提取, 测定。结果在黄芪甲苷峰相应的保留时间几乎无吸收峰, 表明处方中其他成分对测定无干扰(图 1)。

2.6 精密度试验: 对同一供试品溶液(批号 20050321), 连续测定 5 次, 计算得黄芪甲苷峰面积积分值的常用对数值的 RSD 为 1.24%。

2.7 稳定性试验: 对同一供试品溶液(批号 20050321), 在 0、1、5、15 h 分别测定 1 次, 计算得供试品中黄芪甲苷的质量浓度为 69.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD 为 0.62%。表明在 15 h 内, 被测物稳定。

2.8 重现性试验: 对同一供试品(批号 20050321),

平行测定 5 份, 结果黄芪甲苷的质量浓度为 69.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD 为 2.01%。

2.9 回收率试验: 精密量取含黄芪甲苷 69.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的复方扶芳藤合剂(批号 20050321, 规格: 15 mL/瓶) 5 mL, 分别精密加入 0.158 5 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 2 mL, 制备供试品溶液测定, 计算回收率。结果黄芪甲苷平均回收率为 99.93%, RSD 为 2.73% ($n=5$)。

2.10 样品的测定: 按上述方法, 测定了本品 3 批样品中黄芪甲苷的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 复方扶芳藤合剂中黄芪甲苷测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of astragaloside IV in Compound Fufangteng Mistura ($n=3$)

批 号	黄芪甲苷/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
20050406	63.7
20050407	65.6
20050408	73.8

3 讨论

黄芪甲苷是黄芪的主要有效成分, 以往测定黄芪甲苷的方法主要有比色法、薄层扫描法和 HPLC-UV 法。比色法和薄层扫描法因操作步骤多, 受试验条件的干扰较大而逐渐不被采用; HPLC-UV 法因采用紫外末端吸收检测, 易受溶剂背景的影响, 重现性较差, 测定中成药常有干扰。而 HPLC-ELSD 灵敏度高, 重现性好, 故采用 HPLC-ELSD 测定黄芪甲苷, 结果表明该法不受其它成分的干扰, 分离度好, 质量可控。

流动相选择: 以乙腈-水为流动相, 并结合本品实际情况, 将乙腈-水比例调整为 (33:67) 进行色谱分析, 结果所测成分黄芪甲苷峰形良好, 且与其他成分达到基线分离, 黄芪甲苷出峰时间为 19~20 min。

漂移管温度的选择: 根据流动相组成和比例按检测手册参数表计算, 流动相体积流量为 0.8 mL/min 时的参数, 以 100 $^{\circ}\text{C}$ 为起点, 气体流量 2.7 L/min 不变, 以 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黄芪甲苷对照品溶液进样 10 μL , 当升温至 109 $^{\circ}\text{C}$ 时的基线噪音可接受, 故确定漂移管温度为 109 $^{\circ}\text{C}$ 。

气体流量的选择: 漂移管温度为 109 $^{\circ}\text{C}$ 不变, 气体流量从 2.5 L/min 为起点, 每次升高 0.1 L/min, 以 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黄芪甲苷对照品溶液进样 10 μL , 结果在气体流量 2.8 L/min 时产生最大信噪比, 确定气体流量为 2.8 L/min。