

表 2 不同温度处理下轮叶马先蒿发芽率及其发芽势  
Table 2 Germination percentage and tendency of *P. verticillata* under various temperatures

处 理	发芽率/%	发芽势/%
恒温箱 (28 ℃)	22.1	20.10
恒温箱 (17~20 ℃)	45.0	43.30
恒温箱 (9~16 ℃)	41.0	39.70
人工气候室 (9.66, 10.21, 0.15, -0.83 ℃)	33.6	23.40
人工气候室 (14.76, 20.9, 6.31, 4.01 ℃)	76.9	71.40
人工气候室 (26.17, 29.58, 5.19, 0.75 ℃)	72.4	66.60

### 3 轮叶马先蒿的开发与展望

新疆是我国五大牧区之一,有着丰富的草地资源。但近年来由于部分地区乱采乱挖药材的现象非常普遍,导致一些地区草地退化,严重影响了当地畜牧业的发展和农牧民的生活。轮叶马先蒿具有很高的药用价值,其应用前景广阔,合理利用轮叶马先蒿,要加强以下几个方面的工作:1)制定相应的政策和法规,轮叶马先蒿的开发要在相关部门的监管下进行,禁止滥采滥挖。2)加大对新疆轮叶马先蒿药用价值的宣传力度,鼓励药材部门和制药厂收购此药

材,在新疆为该药材开拓出一个广阔的市场。3)利用人工种植和栽培的方式开发,实现其规模化生产,带动当地经济的发展,缓解过度放牧对草地生态系统的压力。

### References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986.
- [2] Feng H Y, An Z L, Wang X L. Investigation oil resources of medicinal plants *Pedicularis* L. in Gansu Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(5): 449-451.
- [3] Commission Redactorum Florae Xin-jiangensis. *Flora Xinjiangensis* (新疆植物志) [M]. Wulumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 2004.
- [4] Zhao J P, Wu X M, Su X, et al. Study on the resource surveying researching and exploiting of *Pedicularis kansuensis* Maxim. in Qinghai province [J]. *Qinghai Pratacul* (青海草业), 2005, 14(2): 44-50.
- [5] Li K H, Hu Y K, Adeli M D. Impact of temperature on seed germination of *Pedicularis verticillata* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2006, 28(4): 421-424.

## HPLC-ELSD 法测定不同产地黄芪中黄芪甲苷

胡海云,王伟华,段 启

(广东康美药业股份有限公司 技术研究中心,广东 普宁 515300)

黄芪性温,味甘,为常用补气药。具有补气固表、利尿排毒、排脓、敛疮生肌等功效<sup>[1]</sup>。多年研究表明,黄芪皂苷是黄芪药效物质基础的重要组成部分之一,在抗衰老、调节免疫功能、保护心肌和大脑缺血等方面具有显著作用。黄芪甲苷是主要有效成分之一,具有抗炎镇痛、降压等重要生理活性<sup>[2]</sup>。本研究所用药材为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根,多为栽培或野生,分布于山西、内蒙、吉林、河北等地,本实验采用高效液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)法,测定了不同产地黄芪中黄芪甲苷。据此对不同产地的黄芪质量进行了评价,为公司采购合格的药材提供依据。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括:四元泵,在线脱气机,柱温箱;蒸发光散射检测器(美国惠

泽);Sartorius BS 400S—WEI 万分之一天平(北京塞多利斯天平有限公司)。乙腈(美国 Fisher 公司,色谱纯),甲醇、正丁醇、氨试液(AR,均为广州化学试剂厂),水为超纯水。黄芪甲苷(中国药品生物制品检定所,批号:0781-200311,供定量测定用)。

黄芪分别采自山西大同、陕西旬邑、陕西定边、内蒙古固阳、河北青龙、甘肃岷县、甘肃陇西、山东文登、吉林荒松,经江西中医学院鉴定教研室鉴定为正品黄芪。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Hypersil ODS (200 mm×4.6 mm, 5 μm) SN:1 514 654;流动相:乙腈-水(32:68);体积流量 1.0 mL/min;柱温:25 ℃;ELSD 参数:蒸发温度:45 ℃,N<sub>2</sub>压力:179 260 Pa 衰减参数:3。理论塔板数以黄芪甲苷计算不低于 4 000。见图 1。

2.2 标准曲线与线性关系:精密称取黄芪甲苷对照

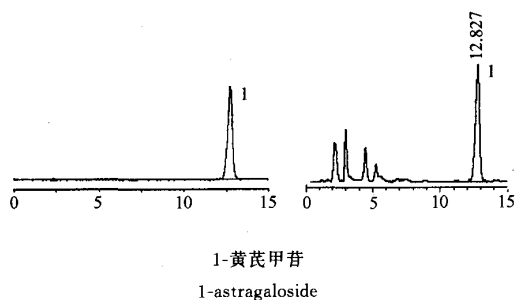


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 1 HPLC-ELSD Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

品 5.00 mg 置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.5 mg/mL 的黄芪甲苷对照品溶液,精密吸取对照品溶液 4、8、12、16、20  $\mu$ L 进样,测定,以对照品溶液质量浓度的自然对数为横坐标 (X),峰面积的自然对数为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线,计算回归方程为  $Y = 1.294 \times 10^{-6} X + 0.02748$ ,  $r = 0.9996$ ,黄芪甲苷在 2.024~10.120  $\mu$ g 的线性关系良好。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取黄芪粉末(过 40 目筛) 4.0 g,置 60 mL 索氏提取器中,加 40 mL 甲醇冷浸过夜,再加 30 mL 甲醇,80  $^{\circ}$ C 水浴回流 4 h<sup>[3]</sup>,提取液回收并浓缩至干,残渣加 10 mL 水,微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次(4  $\times$  40 mL),合并正丁醇液,用 40 mL 氨试液充分洗涤 2 次,每次 40 mL,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加 5 mL 水使溶解,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,长 12 cm),以水 50 mL 洗脱,弃去水液,再用 40% 乙醇 30 mL 洗脱,弃去洗脱液,继用 70% 乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.4 精密度试验:取黄芪甲苷对照品溶液,在 1 d 之内连续进样 5 次,每次 20  $\mu$ L,计算峰面积 RSD 为 1.3% ( $n = 5$ )。

2.5 稳定性试验:取所制备的黄芪样品溶液,分别在 0、3、6、12、18、24、36、48 h 测定黄芪甲苷的峰面积,计算黄芪甲苷峰面积的 RSD 为 1.24%。结果表明,供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.6 重现性试验:精密称取同一批黄芪药材 5 份,各约 4.0 g,制备供试品溶液,进样分析,测定相应的峰面积,计算黄芪甲苷平均质量分数为 1.57 mg/g, RSD = 1.26% ( $n = 5$ ),表明方法的重现性良好。

2.7 回收率试验:精密称定已测定的药材中粉 6 份,各约 2.0 g,分别精密加入黄芪甲苷 3.0 mg,按

药材供试品溶液制备项下操作,计算回收率,平均回收率为 98.0%,RSD 为 0.87%。

2.8 样品的测定:取不同批次的药材,按照供试品液制备项下方法操作,得供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液 10  $\mu$ L,按照上述色谱条件分析测定,以外标两点法计算,样品的测定结果见表 1。

表 1 不同产地黄芪样品中黄芪甲苷 ( $n = 3$ )

Table 1 Astragaloside in *Radix Astragali* from various habitats ( $n = 3$ )

编号	样品来源	黄芪甲苷/(mg $\cdot$ g <sup>-1</sup> )
1	山西大同平地三年生	1.23
2	山西大同坡地十年生	0.99
3	河北青龙	1.11
4	内蒙古固阳	1.57
5	山东文登	1.55
6	陕西旬邑	1.36
7	陕西定边	1.13
8	甘肃陇西	1.22
9	甘肃岷县	0.70
10	吉林荒松	2.15

### 3 讨论

3.1 为了获得最高灵敏度,需要调节 ELSD 的检测器的载气压力、雾化温度和蒸发温度这 3 个重要的参数,通过实验发现,在 1.0 mL/min 的体积流量条件下,设定  $17.926 \times 10^4$  Pa 的载气压力、30  $^{\circ}$ C 的雾化温度和 45  $^{\circ}$ C 的蒸发温度可以获得最大的检测灵敏度。当载气压力较低时,会因喷出的雾滴不均匀产生色谱峰顶端尖刺的现象;而载气压力较低,则会因为雾滴的粒度过小,使灵敏度降低;温度过低时,流动相的蒸发会不完全,直接由蒸发管流出,导致检测信号较低;温度过高,则会使形成的微粒大小不均匀,导致精密度较差。另外,设置衰减值为 3,可以使信号的响应较高,且基线的噪音不会对检测产生任何影响。

3.2 直接以峰面积与样品的质量浓度计算标准曲线的线性较差,而将峰面积与样品的质量浓度值分别取自然对数后可得到理想的线形关系,这种现象与 ELSD 的检测机制是一致的。当颗粒与光发生作用时,会有多个类型的散射过程,均与颗粒的大小及波长有关,其散射光的强度是由不同类型组合而成的,与样品的质量呈双对数线性关系。

3.3 对黄芪甲苷进行测定时,提取液以氨试液洗涤的量远高于未用氨试液处理,据文献报道<sup>[4]</sup>,黄芪中有 5 种黄芪皂苷,它们的基本母核均为黄芪皂苷 IV (黄芪甲苷),这几种皂苷的糖链上连接有 1~3 个乙酰基,用碱处理时,乙酰基易脱落成为黄芪甲苷。因此经氨试液处理后的样品,所测得结果应该是黄

芪总皂苷的量。

3.4 通过高效液相色谱-蒸发光散射法对不同产地黄芪中黄芪甲苷的测定,对黄芪质量进行比较,得出如下结论:不同产地黄芪中黄芪甲苷的量有一定差异。

#### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.  
[2] Liu X J, Ha Z K. The Astragaloside composition and phar-

macology live research makes progress [J]. *Shanghai Med Pharm J* (上海医药), 1996 (2): 23.

- [3] Zheng Z R, Song C Q, Liu D, et al. Determination of astragaloside IV in the hairy root cultures of membranous milkvetch (*Astragalus membranaceus*) by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(2): 98-99.  
[4] Yuan T Z M. Japan is in common use to living the metered method of medicine Astragaloside [J]. *World Phytomed* (国外医药:植物药分册), 1990, 5(5): 201.

## 高效液相色谱法测定不同产地枳壳中柚皮苷和新橙皮苷

杨武亮<sup>1</sup>, 杨世林<sup>2</sup>, 黄加龙<sup>1</sup>, 李霞兰<sup>1</sup>, 欧阳辉<sup>2</sup>, 刘颖<sup>2</sup>, 王少军<sup>2</sup>

(1. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004;

2. 中国固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006)

枳壳始载于《药性论》, 历代本草多有记载。经考证, 宋代以前使用的枳实(壳)为枸橘 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥幼果及未成熟果实; 明清以后则以质量更优的酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥幼果及未成熟果实为主流作枳实及枳壳入药, 并沿用至今。枳壳具有理气宽中、行滞消胀功效。其目前已知主要成分为黄酮类化合物、挥发油和少量的生物碱等成分。《中国药典》2005 年版一部<sup>[1]</sup>在定量测定项下采用 HPLC 测定柚皮苷的量来控制枳壳的质量。只以柚皮苷为指标来控制枳壳的质量, 不能很好地反映枳壳药材的基原植物就是酸橙, 因为柑橘属有多种植物果实含有柚皮苷而不含有新橙皮苷, 也不作为枳壳的基原植物。本研究同时以柚皮苷和新橙皮苷为对照品, 采用 HPLC 法同时控制枳壳药材中柚皮苷和新橙皮苷的量, 能反映目前枳壳主产区枳壳的来源, 可以保证药材质量的均匀和稳定。此方法简便、可靠, 能为枳壳的质量评价提供更为可靠的依据。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, Agilent 1100 色谱工作站; 电子天平 (METTLER AE 240)。

1.2 试剂: 乙腈 (HPLC 级, Merck); 其他试剂均为分析纯; 水为重蒸水。新橙皮苷对照品 (自制, 经 HPLC 峰面积归一化法测定质量分数 99.34%); 柚皮苷对照品购于中国药品生物制品检定所 (供定量

测定用, 批号 0722-200108)。枳壳药材 2002 年购 (采) 于江西、湖南、四川、重庆、浙江等地。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Hypersil C<sub>18</sub> 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈-水 (磷酸调 pH 3) (20:80); 检测波长为 283 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C。理论塔板数按柚皮苷峰计算应不得低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取减压干燥至恒重的柚皮苷和新橙皮苷对照品各 10 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 从中各精密量取 5 mL, 同置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取枳壳粉末 (过 40 目筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加 25 mL 甲醇, 水浴回流提取 1.5 h, 滤过, 滤液置 50 mL 量瓶中, 残渣用甲醇再提取两次, 每次加甲醇 10 mL 提取 10 min, 合并提取液, 冷却, 最后加甲醇至刻度, 摇匀。准确吸取该溶液 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性范围考察: 精密称取柚皮苷对照品 9.73 mg 和新橙皮苷对照品 9.69 mg, 分别置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述两个对照品溶液各 1、2、3、4、5、6 mL 分别置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得到混合对照品溶液。分别进样 10 μL, 以对照品的量为横坐

收稿日期: 2006-04-10

基金项目: 国家科技部 2002 年“中药材标准及其相关临床疗效评价标准”资助项目 (ZTS-334-17)

作者简介: 杨武亮 (1965—), 男, 江西南昌人, 现为江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室副教授, 硕士生导师, 重点研究方向为中药质量控制。E-mail: yangwuliang@163.com