

表 3 各成分的保留时间

Tab 3 resolution of every ingredient

溶剂	甲醇	乙醇	氯苯	乙酸	DMF
保留时间(min)	(少于)5.0	(少于)5.0	6.9	10.4	12.8

2.2.4 线性试验 取对照品贮备液 20.0mL,用甲醇稀释至 100.0mL,分别精密量取 0.25mL、0.5mL、1.5mL、2.5mL、5.0mL、6.0mL 与 11.5mL 分别置 100mL 的量瓶中,分别加入内标贮备液 1.0mL,用甲醇稀释至刻度,分别连续检测 3 次,结果:DMF 线性方程: $Y = 0.0426 - 0.0202X$, $r = 0.9994$,其中, Y 为 DMF 与内标物的峰面积之比; X 为 DMF 测定浓度(单位 $\mu\text{g/mL}$)。乙酸线性方程: $Y = 0.0136 + 0.0042X$, $r = 0.9998$,其中, Y 为乙酸与内标物的峰面积之比; X 为 DMF 测定浓度(单位 $\mu\text{g/mL}$)。

2.2.5 回收率

2.2.5.1 内标溶液配制:取内标贮备液 5.0mL,置 50mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,即得。

2.2.5.2 对照溶液配制:取对照品贮备液 5.0mL,置 100mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,即得。

2.2.5.3 样品溶液配制:取 01110303 批号 2.000g,置 50mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,即得。

2.2.5.4 测定法分别精密量取对照溶液 1.1mL、1.4mL、2.2mL 各三分,分别置 10mL 的量瓶中,分别加入内标溶液 1.0mL 及样品溶液 5.0mL,用甲醇稀

释至刻度,作为加样回收率测定溶液。结果:DMF 平均回收率为 100.59% ($n = 9$) ($RSD = 2.76\%$);乙酸平均回收率为 101.02% ($n = 9$) ($RSD = 3.24\%$)。

2.2.6 定量限和最低检测限 将对照品溶液分别用甲醇稀释至一定浓度,分别进样三次,计算信噪比。结果,当 DMF 与乙酸的浓度分别为 7.38 与 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 时,信噪比大于 11.5(LOQ);当 DMF 与乙酸的浓度分别为 2.21 与 3.75 $\mu\text{g/mL}$ 时,信噪比大于 3.1(LOD)。

2.2.7 样品测定 取 2.2.2.3 样品溶液,照上述色谱条件测定,结果三批均未检出 DMF 与乙酸。

3 讨论

3.1 因顶空法重现性差,且灵敏度小,故用直接进样法测定。

3.2 比较了不同的毛细管色谱柱(HP-1、HP-5 及 INNOWAX),发现 INNOWAX 柱效高。

3.3 溶剂的选择:首先选用出峰快的甲醇为溶剂,经对 Merck 及 Fisher 两个厂家的 HPLC 级甲醇测定,结果发现,甲醇中均残留乙醇,干扰乙醇测定;选用出峰慢的 DMSO 为溶剂,结果发现,乙酸与 DMSO 反应,影响乙酸的保留时间、灵敏度、分离度。故采用两种溶剂,两种色谱条件分别测定乙醇及 DMF、乙酸。

收稿日期:2003-10-28

薏苡仁药材指纹图谱的研究与应用

陈勇, 陈碧莲, 何云珍, 祝明(浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004)

摘要 目的:建立薏苡仁的指纹图谱分析方法,应用于实际工作中。**方法:**采用 HPLC-ELSD 法对薏苡仁中甘油三酯类成分进行指纹分析,Discovery[®] C₁₈ 为色谱柱,流动相为乙腈-二氯甲烷(59:41),流速为每分钟 0.5mL,漂移管温度为 70℃,氮气流速为每分钟 1.2L。**结果:**指纹图谱中共有 7 个主要色谱峰,其相对保留时间的重现性 RSD 均小于 0.3%,精密度 RSD 均小于 0.1%,相对峰面积的重现性 RSD 均小于 1.8%,精密度 RSD 均小于 2.0%,不同产地的薏苡仁指纹图谱稳定,重现性好。**结论:**该指纹图谱方法可靠、简便,可作为薏苡仁质量控制指标。

关键词 薏苡仁;指纹图谱;ELSD-HPLC

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2003)06-0357-03

Fingerprint research and application for *semen coicis*

CHEN Yong, CHEN Bi-lian, HE Yun-zhen, ZHU Ming (Zhejiang Institute for Drug control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the fingerprint method for *semen coicis*. **METHODS:** The Discovery® C₁₈ column with acetonitrile – dichloromethanol (59 : 41) as the mobile phase was used in HPLC-ELSD. The flow rate was 0.5 mL/min and ELSD tube temperature is 70°C, The flow rate of Nitrogen is 1.2 L/min. **RESULTS:** There are 7 mostly chromatogram in the fingerprint of *semen coicis*, the relative standard deviation (RSD) of relative retain time for reproducibility was not more than 0.3%, for precision was not more than 0.1%. the relative standard deviation (RSD) of relative peak area for reproducibility was not more than 1.8%, for precision was not more than 2.0%, and the fingerprint for *semen coicis* of different producing area is very stabilization. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate with a good reproducibility and can be used as a quantitative analysis method for *semen coicis*.

KEY WORDS *semen coicis*; fingerprint; HPLC-ELSD.

薏苡仁收载于中国药典 2000 年版一部,具健脾渗湿,除痹止泻,清热排脓之功效。现代药理研究表明,薏苡仁中的具抗肿瘤的活性成分为甘油三酯类组分,其中有甘油三油酸酯,甘油三亚油酸酯,1,2-油酸-3-亚油酸-甘油三酯,1,2-亚油酸-3-油酸-甘油三酯等,而不同品种药材如鸦胆子油、大豆油等也含有甘油三酯类成分,但所含甘油三酯类组分的比例不同,其作用也不同。为更好地控制药材的质量,我们对薏苡仁中的甘油三酯类组分进行了指纹图谱研究,结果样品间的指纹图谱稳定,重现性

好,该方法可作为薏苡仁甘油三酯类组分的检查,以控制质量。

1 仪器与试剂

AgiLent 1100 系列液相色谱仪(美国安捷伦公司), ALLtech ELSD-2000 型蒸发光散射检测器(美国奥泰公司)。乙腈、二氯甲烷均为色谱纯。

甘油三油酸酯对照品,购于 FLuka 公司,批号 2045347,标示纯度 99.0% 以上。10 批薏苡仁来源见表 1。

表 1 10 批药材指纹谱相对保留时间

样品来源	1	2	3	4	5	S	7
浙江中医学院饮片厂	0.600 9	0.703 0	0.747 8	0.832 5	0.889 6	1.000 0	1.075 8
安徽亳州	0.607 1	0.707 8	0.752 6	0.836 1	0.892 4	1.000 0	1.076 2
广西药检所	0.602 5	0.704 1	0.749 4	0.834 1	0.891 0	1.000 0	1.075 6
山东药检所	0.602 8	0.704 3	0.749 7	0.833 8	0.890 6	1.000 0	1.075 9
福建莆田先达食品	0.606 9	0.706 3	0.751 1	0.834 7	0.891 7	1.000 0	1.075 8
杭州欧尚超市	0.605 8	0.706 1	0.751 2	0.835 4	0.891 7	1.000 0	1.076 1
上海联华超市	0.608 3	0.708 3	0.752 6	0.835 8	0.891 9	1.000 0	1.074 2
福建三名	0.606 1	0.706 7	0.751 4	0.835 3	0.891 4	1.000 0	1.074 6
杭州景福超市	0.602 3	0.703 2	0.748 8	0.834 5	0.891 1	1.000 0	1.074 9
杭州凯伦医药	0.601 0	0.702 5	0.748 0	0.833 5	0.890 3	1.000 0	1.073 6
平均	0.604 4	0.705 2	0.750 3	0.834 6	0.891 2	1.000 0	1.075 3
RSD (%)	0.5	0.3	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1

2 方法与结果

2.1 方法的确定与检测器的选择 因本品主要成分为甘油三酯,其极性较小,而分子量较大,如采用气相色谱分离,则需经皂化及甲酯化后才能实现,为能反映样品中所含实际成分的比例,故选用常用的、分离效果好的液相色谱法。因本品在紫外区基本无吸收,曾采用紫外检测器进行检测(用 210nm 作为检测波长),结果因响应值太小,基线噪音大,故未采用,后改为通用型检测器蒸发光散射检测器进行检测,结果较为理想。

2.2 色谱分析条件 色谱柱为 Discovery® C₁₈ (250mm×4.6mm,5μm),流动相为乙腈-二氯甲烷

(59 : 41),流速为 0.5 mL/min,柱温为 25°C; ELSD 参数:漂移管温度 70°C,氮气流速 1.2 L/min。

2.3 参照物的制备 精密称取甘油三油酸酯对照品适量,加流动相制成每 1 mL 含 0.14 mg 的溶液,即得。

2.4 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛) 0.6 g,精密称定,精密加入流动相 50 mL,称定重量,浸泡 2 h,超声处理 30 min,取出,放冷,称重,用流动相补足损失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.5 指纹图谱的确定 本品的供试品溶液按上述色谱条件测定并记录指纹图谱,结果见图 1。

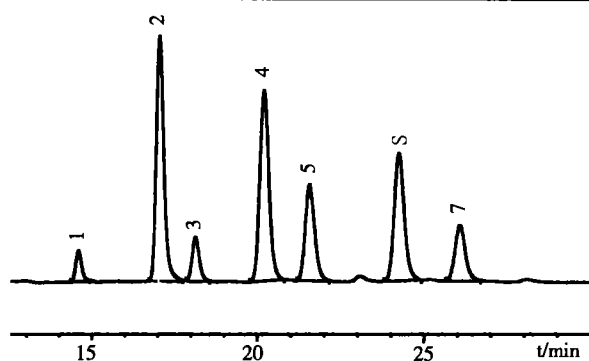


图 1 薏苡仁指纹图谱

1 - 为甘油三亚油酸酯; 2 - 为 1,2 - 亚油酸 - 3 - 油酸 - 甘油三酯;
4 - 为 1,2 - 油酸 - 3 - 亚油酸 - 甘油三酯; S - 为甘油三油酸酯

2.6 指纹图谱的重现性、精密度与稳定性试验

取同一批药材 6 份,按上述方法分别提取、进样并记录色谱图,计算相对保留时间和相对峰面积,结果显示各峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.3%,相对峰面积的 RSD 为 0.6% ~ 1.8%。再取重现性试验第

1 份样品重复进样 6 针,计算相对保留时间和相对峰面积,结果显示该色谱系统精密度良好,各峰相对保留时间的 RSD 均在 0.1% 以下,相对峰面积的 RSD 为 0.9% ~ 2.0%。取重现性试验第 1 份样品每隔一定时间检测,计算相对保留时间和相对峰面积,结果显示供试品溶液的指纹图谱在 49h 内基本稳定,各峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.3%,相对峰面积的 RSD 为 0.4% ~ 1.3%。

2.7 不同来源薏苡仁药材的指纹图谱 取不同来源的薏苡仁药材,分别按上述方法制备供试品溶液,进样并记录指纹谱。结果 10 批药材均显示 7 个特征峰,其各峰相对保留时间的 RSD 为 0.1% ~ 0.5%,各峰相对峰面积的 RSD 为 5.0% ~ 12.7%,说明参考指纹各特征峰为薏苡仁药材的共有成分。10 批药材指纹谱中各特征峰的相对保留时间和相对峰面积见表 1,2。

表 2 10 批药材指纹谱相对峰面积

样品来源	2	4	5	S	7
浙江中医学院饮片厂	1.373 2	1.319 3	0.720 5	1.000 0	0.462 1
安徽亳州	1.489 2	1.476 1	0.706 6	1.000 0	0.411 3
广西药检所	1.334 0	1.257 0	0.660 0	1.000 0	0.420 7
山东药检所	1.499 6	1.454 8	0.737 9	1.000 0	0.451 7
福建莆田先达食品	1.544 9	1.407 0	0.688 5	1.000 0	0.399 2
杭州欧尚超市	1.420 7	1.430 4	0.589 3	1.000 0	0.341 7
上海联华超市	1.346 4	1.358 6	0.633 1	1.000 0	0.377 5
福建三名	1.340 2	1.437 9	0.525 3	1.000 0	0.316 6
杭州景福超市	1.368 7	1.418 7	0.594 2	1.000 0	0.365 7
杭州凯伦医药	1.436 4	1.342 1	0.730 6	1.000 0	0.465 0
RSD(%)	5.3	5.0	10.8		12.7

3 讨论

3.1 分离模式及流动相的选择 曾采用硅胶柱,用正相色谱模式进行分离,当使用极性已很小的正己烷、正己烷 - 异丙醇(95 : 5)洗脱时,所需测定成分出峰仍很快,不能得到很好分离,故未采用,经查阅有关文献,分离甘油三酯类成分常采用非水反相色谱模式,经比较几种据文献报道分离效果较好的流动相系统(例:乙腈 - 四氢呋喃;丙酮 - 乙腈;乙腈 - 二氯甲烷等)后,以乙腈 - 二氯甲烷系统分离效果最好。

3.2 不同品牌 C₁₈ 柱的比较 比较了 4 种不同填料的 C₁₈ 色谱柱,结果均能得到较好的分离,本实验中选用 Discovery® C₁₈ 色谱柱。

3.3 试验中比较了丙酮、正己烷、石油醚(60 ~ 90℃)和流动相提取对本品指纹谱的影响,并比较了超声、回流和索氏提取对本品指纹谱的影响,结果以流动相超声提取既方便又提取效率高。

3.4 比较了鸦胆子油与薏苡仁油指纹谱的区别

(见图 2),结果鸦胆子与薏苡仁的甘油三酯类成分类似,但组分间比例明显有较大差别,所以控制甘油三酯类组分的比例对薏苡仁的质量有较大的意义。

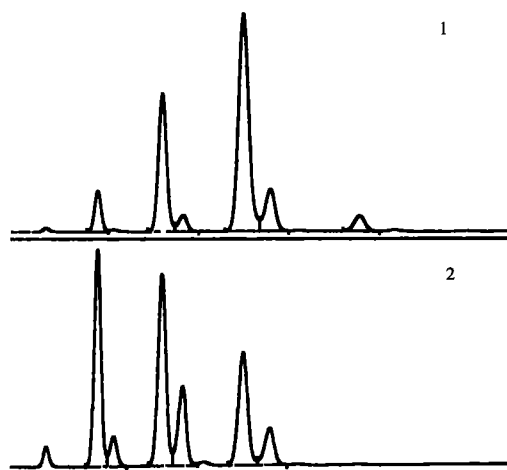


图 2 薏苡仁与鸦胆子指纹谱比较图

1 - 鸦胆子; 2 - 薏苡仁

收稿日期:2003 - 10 - 28