

类似物^[1,2], 均具有抗菌、抗病毒、抗氧化等活性^[3~5]。为了全面考察金芍抗病毒胶囊抗菌抗病毒作用的指标成分, 本研究采用了 HPLC 法和紫外分光光度法分别测定了金银花中绿原酸和总酚酸的含量。

3.2 本研究中两种测定方法采用了不同的吸收波长, HPLC 法选择了 327 nm, 而紫外分光光度法选择了 323.5 nm, 这是由于 HPLC 法与紫外分光光度法所采用的溶剂系统不同, 前者的流动相为乙腈-水 (18:82, 以 H₃PO₄ 调节 pH 2), 而后的溶剂为 0.2 mol/L 盐酸。

3.3 HPLC 法和紫外分光光度法测定的结果表明, 金芍抗病毒胶囊中总酚酸的含量约为绿原酸的

3 倍。

References

- [1] Yu S L, Zhang L, Sun L. Research progress of *Flos loniceræ* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2002, 13(8): 498-500.
- [2] Wei Q, Ma X H. Advances in research of chlorogenic acid and its extraction and isolation methods [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (2): 135-138.
- [3] Zhang A L, Ma Q, Gao J M, et al. Studies on bioactivities of chlorogenic acid and its analogues [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(2): 173-176.
- [4] Wu K J, Sun K X, Wang J L, et al. Inhibited effect of chlorogenic acid on virus in vitro [J]. *J Harbin Med Univ* (哈尔滨医科大学学报), 2001, 35(6): 430-432.
- [5] Krakauer T. The polyphenol chlorogenic acid inhibits staphylococcal exotoxin-induced inflammatory cytokines and chemokines [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2002, 24 (1): 113-119.

HPLC 法测定金刚藤颗粒中山柰素的含量

刘素香*

(天津药物研究院中药现代研究部, 天津 300193)

金刚藤颗粒为金刚藤提取物制备而成的颗粒剂。金刚藤的主要有效成分为薯蓣皂苷元和由多种薯蓣皂苷元构成的皂苷及山柰素与双氢山柰素等黄酮类化合物。我们曾试图采用 HPLC 法测定本品中的薯蓣皂苷元, 由于薯蓣皂苷元含量甚微, 而且其紫外吸收亦处于末端, 受其他物质的干扰, 不宜作为质量控制指标。为了有效控制制剂质量, 根据所含主要有效成分之一山柰素特点, 本实验建立了 HPLC 法测定金刚藤颗粒中山柰素含量的方法, 结果准确、灵敏、重现性好。

1 仪器与试剂

美国 Waters 液相色谱仪, M 510 泵, M 710B 自动进样器, RA N N UV—C 紫外检测器, 岛津 C—R 6A 数据处理机。试剂均为分析纯, 三乙胺为分析纯经重蒸, 水为去离子水。山柰素对照品购自中国药品生物制品检定所 (批号: 0861-200002, 供含量测定用)。金刚藤颗粒 (自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸-三乙胺 (29:71:0.3:0.05); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 365 nm; 灵敏

度: 0.1 AUFS; 进样量: 10 μL。色谱图见图 1。

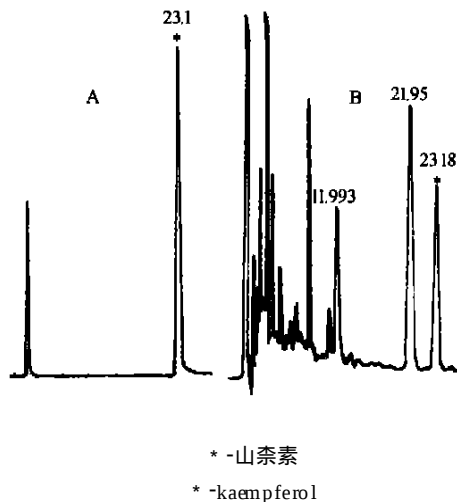


图 1 山柰素对照品(A)和金刚藤颗粒(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of kaempferol (A) and Jingangteng Granula (B)

2.2 对照品溶液的制备: 取山柰素对照品 5.15 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度,

* 收稿日期: 2003-05-18

作者简介: 刘素香 (1963—), 女, 天津市人, 天津药物研究院中药现代研究部副研究员, 主要从事中药新产品的开发。
Tel: (022) 23006840

摇匀, 即得(含山柰素 0.0103 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品, 研成细粉, 取约 1 g , 精密称定, 加入甲醇 50 mL , 加热回流 1 h , 滤过, 残渣用甲醇少量洗涤 2 次, 洗涤液并入滤液中。滤液减压浓缩至干, 用水 25 mL 分次定量转移至分液漏斗中, 用乙醚 40 mL 萃取 3 次($15, 15, 10 \text{ mL}$), 萃取液合并, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性范围的考察: 精密量取山柰素对照品贮备溶液(0.103 mg/mL) $0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 \text{ mL}$ 分别置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成系列浓度的溶液。分别量取 $10 \mu\text{L}$ 进样, 以山柰素的量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为 $Y = 224077.1X - 2742.2$, $r = 0.9999$ 。结果表明山柰素在 $0.0103 \sim 0.5150 \mu\text{g}$ 时与峰面积值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密量取山柰素对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 重复进样 6 次, 测定山柰素峰面积值, 结果其 $RSD = 0.77\%$ ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液(批号 20000628) 分别于 $0, 2, 4, 6, 8 \text{ h}$ 进样 $10 \mu\text{L}$, 测得样品中山柰素峰面积值的 $RSD = 1.33\%$ ($n = 6$)。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批样品(批号: 20000628) 5 份, 按上述方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算山柰素含量, 结果其 $RSD = 1.57\%$ ($n = 5$)。

2.8 回收率试验: 取已知含量的样品(批号: 20000628, 含量为 0.1097 mg/g) 1 g , 分别精密加入山柰素对照品溶液(0.236 mg/mL) 0.5 mL , 照上述色谱条件和供试品制备方法操作, 结果平均回

收率为 99.89% , $RSD = 1.83\%$ ($n = 6$)。

2.9 样品测定: 照已建立的含量测定方法, 对金刚藤颗粒中的山柰素进行了含量测定, 结果见表 1。

表 1 金刚藤颗粒中山柰素含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Kaempferol in Jingangteng Granula ($n = 3$)

批号	山柰素含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	批号	山柰素含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
990909	0.1174	990916	0.1004
990921	0.1048	990923	0.1020
990907	0.0969	991005	0.0948
991007	0.0948		

3 讨论

3.1 本品成分复杂, 用甲醇作溶剂提取后, 在主峰前有大量的极性组份, 为了减小色谱柱的负荷以及其他组份对山柰素的干扰, 故用乙醚对样品进行了萃取, 并且对萃取的次数进行了考察, 测定结果表明: 用乙醚萃取 3 次即可提取完全, 第 4 次萃取液未检出山柰素。

3.2 对供试品溶液的制备所用溶剂和提取方法进行了考察比较, 如用甲醇、乙醇、醋酸乙酯、乙醚作为提取溶媒进行了考察; 同时对超声提取、索氏提取、加热回流方法及提取时间进行了比较, 制备了各种供试品溶液。经比较, 选用甲醇加热回流、乙醚萃取制备供试品溶液为最佳方法。

3.3 比较了不同系统和比例的流动相, 如甲醇-水-磷酸、乙腈-水-磷酸、乙腈-水-磷酸-三乙胺系统, 结果以乙腈-水-磷酸-三乙胺($29:71:0.3:0.05$)为流动相, 使山柰素与其相邻的组份峰可获得良好分离, 理论塔板数以山柰素计约为 7000 , 在上述条件下, 山柰素与其相邻峰分离度符合要求。

3.4 在进行波长选择时, 采用甲醇和流动相分别配制山柰素对照品溶液进行紫外吸收扫描, 表明在 365 nm 处均有最大吸收, 故选择检测波长为 365 nm 。

HPLC 法测定水辣蓼中芦丁的含量

罗杰¹, 陆霞^{2*}

(1. 广州白云山中药厂, 广东 广州 510015; 2. 广东省药品检验所, 广东 广州 510015)

辣蓼为蓼科植物水辣蓼 *Polygonum hydropiper* L. 或旱辣蓼 *P. flaccidum* Meisn. 的干燥全草。具有除湿化滞等功效, 用于痢疾、肠炎、食滞等。辣蓼含

黄酮类物质, 其中芦丁具有抗炎作用^[1]、止血作用^[2]。本实验采用 HPLC 法对水辣蓼中芦丁进行测定, 可以更好地掌握和控制药材的质量。

* 收稿日期: 2003-05-27

作者简介: 罗杰(1966—), 男, 广东人, 主管中药师, 1992年毕业于广州中医药大学, 主要从事中药质量标准研究。
Tel: (020) 88129119