

11.38 mg/g 的样品6份,各称取约0.1 g,分别精密加入柚皮苷对照品1.142 4 mg,制备供试品溶液,测定,计算加样回收率,结果平均加样回收率为98.5%,RSD为2.59%。

2.9 空白试验:除枳壳外按处方量称取其他药味,按处方工艺制成不含枳壳的制剂,按供试品溶液制备方法制成空白对照液,进样测定。对照品、供试品和空白对照的HPLC图见图1。说明其他药材与辅料均不干扰柚皮苷的测定。

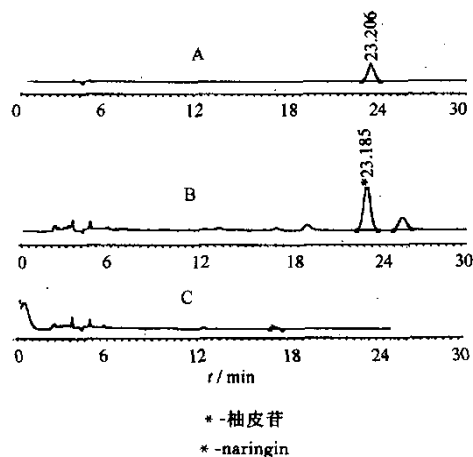


图1 柚皮苷对照品(A)、胃肠安丸(B)和阴性对照(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of naringin reference substance (A), Weichang'an Pill (B), and negative sample (C)

2.10 样品测定:取10批胃肠安丸,制备供试品溶液,每批制备两份。精密吸取供试品溶液、对照品溶

液各2 μ L,注入高效液相色谱仪,进行测定,结果见表1。通过对10批胃肠安丸中柚皮苷进行检测,建议胃肠安丸增加柚皮苷测定的标准定为胃肠安丸中柚皮苷不得少于4.38 mg/g。

表1 胃肠安丸中柚皮苷的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of naringin in Weichang'an Pill ($n=2$)

批号	柚皮苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	批号	柚皮苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)
D109004	4.8	D109016	5.6
D109007	4.9	D109019	5.3
D109008	5.2	D109020	4.4
D109009	5.4	030681	4.6
D109010	4.6	030784	4.8

3 讨论

3.1 提取方法考察:柚皮苷易溶于有机溶剂,提取方法主要有超声处理和回流提取,通过采用甲醇超声提取和甲醇回流提取进行比较,结果以甲醇回流提取效果最好,故采用此提取方法。

3.2 流动相的选择:先后采用甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.3%冰醋酸、乙腈-0.3%冰醋酸为流动相^[1,2]进行试验,比较HPLC谱图,结果显示以乙腈-0.3%冰醋酸(20:80)为流动相进行检测,样品峰分离最好,故采用乙腈-0.3%冰醋酸(20:80)为流动相。

References:

- [1] Hao M H, Wang D, Hu S R. Determination of naringin in Qizhi Weiyan Granules by HPLC [J]. *Drug Standards China* (中国药品标准), 2003, 4 (3): 43-45.
- [2] Liu L Y, Guo Y W, Zhu Z L. Determination of naringin in Zhitejia Tablet by HPLC [J]. *J. Shaanxi Coll Tradit Chin Med* (陕西中医学院学报), 2002, 25 (5): 45-46.

GC法测定当归油中Z-藁本内酯

李桂生^{1,2}, 李八方²

(1. 烟台大学药学院 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264005; 2. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003)

Z-藁本内酯是当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 挥发油中的主要有效成分^[1], 具有解痉^[2]、止咳平喘^[3]、调经止痛^[4]等多种生理活性。目前国家药品标准的成方制剂中以当归挥发油入药的品种多达40余种。目前有关当归油质量标准的研究还比较薄弱, 曾有报道采用气相色谱归一化法^[5]、高效液相色谱法^[6]及气相色谱-质谱联用法^[7]进行评估, 但难以

满足新药研究开发的需要。本研究采用气相色谱法对Z-藁本内酯测定方法进行了探讨。

1 仪器与试剂

日本岛津GC-14B气相色谱仪。邻苯二甲酸二乙酯; 当归油(自制, 经超临界CO₂流体萃取而得, 批号: 030708、030711、030728)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:聚甲基苯基乙烯基硅氧烷(SE-54)毛细管柱(50 m×0.2 mm),柱温 240 ℃,柱前压 210 kPa,汽化室温度 280 ℃,检测器温度 280 ℃,分流比 30:1,尾吹 40 mL/min,检测器 FID。进样量为 0.5 μL。

2.2 Z-藁本内酯对照品的分离鉴定:取当归油 3 g,溶于 5 mL 氯仿中并加入 3 g 柱色谱用硅胶(100~120 目)搅拌,氮气吹干备用。取薄层色谱用硅胶 H 100 g,减压干法装柱,将上述制备的样品上样,氯仿洗脱,分部收集,气相色谱检测,得 Z-藁本内酯对照品 400 mg(色谱归一化检测质量分数>99%)。该化合物 IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 的波谱数据与文献报道的数据一致^[1],故确定该化合物为 Z-藁本内酯。

2.3 对照品溶液的配制:取 Z-藁本内酯对照品适量,精密称定,加无水乙醇制成约 60 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。

2.4 内标溶液的配制:取邻苯二甲酸二乙酯适量,精密称定,加无水乙醇制成约 35 mg/mL 的溶液,作为内标溶液。

2.5 供试品溶液的配制:取当归油 300 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 5 mL 后,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.6 定量校正因子的测定:精密量取 Z-藁本内酯对照品溶液 4.0、5.0、6.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀。分别精密量取 1.0 mL,精密加入内标溶液 1.0 mL,摇匀。分别进样测定 3 次,进行测定,测得定量校正因子为 0.892。

2.7 标准曲线的绘制:精密量取 Z-藁本内酯对照品溶液 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀。分别精密量取 1.0 mL,精密加入内标溶液 1.0 mL,摇匀。分别进样测定,每次 0.5 μL。以 Z-藁本内酯质量浓度为横坐标,Z-藁本内酯峰面积与内标物面积的比值为纵坐标进行线性回归。结果 Z-藁本内酯在 9.12~21.28 mg/mL 呈良好的线性关系,其线性回归方程为 $Y=0.0692X-0.0546$, $r=0.9999$ 。

2.8 精密度试验:对同一供试品溶液连续测定 6 次,结果 Z-藁本内酯峰面积与内标物峰面积的比值均值为 1.088,RSD 为 1.01%。

2.9 稳定性试验:取供试品溶液,在 0、1、2、3、5、8 h 分别进样分析,结果 Z-藁本内酯峰面积与内标物峰面积的比值均值为 1.079,RSD 为 1.24%。说明

供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.10 重现性试验:对同一批号样品,取样 6 份,平行测定,结果当归油中 Z-藁本内酯的平均质量分数为 54.2%,RSD 为 1.17%。

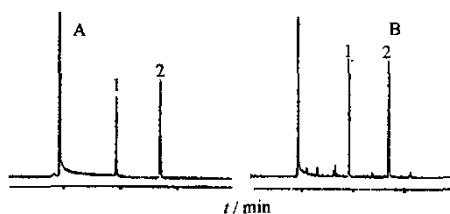
2.11 加样回收率试验:采用加样回收法。分别取已知批号的样品约 120、150、180 mg,各 2 份,精密称定,置 10 mL 量瓶中,分别精密加入内标溶液 5.0 mL 及 Z-藁本内酯对照品溶液 1.25 mL,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,依法测定,计算得平均加样回收率为 98.96%,RSD 为 1.89% ($n=6$)。

2.12 样品测定:依法测定 3 批当归油样品,结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 当归油中 Z-藁本内酯的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of Z-ligustilide in essential oil of *A. sinensis* ($n=3$)

批号	Z-藁本内酯/%
030708	54.2
030711	51.6
030728	52.7



1-内标物邻苯二甲酸二乙酯 2-Z-藁本内酯
1-internal standard diethylo-phthalate 2-Z-ligustilide

图 1 Z-藁本内酯对照品(A)和当归油(B)的 GC 图谱

Fig.1 GC chromatograms of Z-ligustilide reference substance (A) and essential oil in *A. sinensis* (B)

3 讨论

对藁本内酯的测定,采用气相色谱面积归一化法^[6]进行评估,结果不准确;采用高效液相色谱法^[6]对藁本内酯进行测定,由于其极性小,保留时间较长,不适合快速检测的需要;采用气相色谱-质谱联用法^[7]对藁本内酯进行测定,虽快速、准确,但由于设备不普及,其方法也很难推广。

本实验采用气相色谱法,选用毛细管柱,以邻苯二甲酸二乙酯为内标物,建立了当归油中主要成分 Z-藁本内酯的测定方法。作为内标物,邻苯二甲酸二乙酯峰位于 Z-藁本内酯峰附近,且与相邻组分峰完全分离。

References:

- [1] Li G S, Ma C J, Li X Y. Studies on the stability of ligustilide and the analysis of its isomerized products by GC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (6): 405-407.

- [2] Luo Y M, Pan J G, Ding K P, *et al.* Anticonvulsive constituents in the essential oil of Chaxiong (*Ligusticum sinensis* Oliv. cv. *chuanxiong*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (8): 456-457.
- [3] Tao J Y, Ruan Y P, Mei Q B, *et al.* Studies on the antiasthmatic effects of ligustilide of Danggui, *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1984, 19 (8): 561-563.
- [4] Yan S, Qiao G F, Liu Z F, *et al.* Effects of the oil of *Angelica sinensis* on the contractile function of isolated uterine smooth muscle of mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (8): 604-606.
- [5] Huang Y Z, Pu F D. Studies on the chemical components of the essential oil from the rhizome of *Ligusticum sinensis* (Oliv.) cv. *chuanxiong* Hort [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1988, 23 (6): 426-428.
- [6] Zhang J L, He X F, Zhou Z H. HPLC determination of five constituents in plants of Genus *Ligusticum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31 (8): 622-625.
- [7] Mao C J, Han X F, Zhou Z M. Determination of ligustilide in *Angelica sinensis* essential oil by GC-MS [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22 (4): 290-292.

正交设计优选金莲花的提取工艺

辛春兰¹, 潘海峰², 李守拙², 张素华¹

(1. 承德医学院附属医院, 河北 承德 067000; 2. 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000)

金莲花的有效成分为黄酮类化合物, 具有抗菌和抗病毒的作用, 其中含有较多的苣荬草苷和牡荬苷。民间有用金莲花沏水饮用的习俗, 有清咽润喉、清热解毒的功效。开发药食兼用的金莲花饮品, 可以为市场提供卫生、饮用方便和具有保健功能的产品。金莲花露的生产关键是金莲花的有效成分黄酮类化合物的提取。目前常用的提取溶剂有甲醇、乙醇或水^[1,2], 其具有抑菌作用的成分总黄酮类化合物均以金莲花的水提取液优于醇提取液^[3,4]。金莲花经过长时间的加热提取和浓缩, 总黄酮明显降低。为此本实验以水为提取溶剂、冰冻法对提取液进行浓缩, 采用正交试验设计优选最佳提取条件, 确定金莲花水提取液的生产工艺。

1 仪器与试剂

惠普 HP—8453 紫外可见分光光度计; 瑞士产梅特勒 AG—245 型电子分析天平。

金莲花购于承德市药材有限公司, 经承德医学院中药研究所李守拙高级工程师鉴定为短瓣金莲花 *Trollius ledebourii* Reichb. 的花; 苣荬草苷对照品(质量分数 98%) 购自 Sigma 公司; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确立: 根据预试验, 选取加水量、提取时间、提取温度为考察因素, 设计 3 个水平, 见表 1。

2.2 金莲花总黄酮的提取: 精密称取金莲花 20 g, 依正交试验设计, 进行 9 组试验条件下的总黄酮提

表 1 因素水平

Table 1 Factors of levels

水平	因 素		
	A 加水量/倍	B 提取温度/℃	C 提取时间/min
1	20	60	15
2	30	80	30
3	35	100	60

取, 水浴控制温度, 以搅拌方式动态提取, 提取液经抽滤后冰冻浓缩, 离心除去冰渣及少量杂质。浓缩液加去离子水稀释至 3 000 mL, 作为储备液待测。

2.3 金莲花中总黄酮的测定

2.3.1 溶液的制备: 取金莲花储备液 1 mL 于 25 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 作为供试品溶液, 备用。另取苣荬草苷对照品 1.52 mg 于 10 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 作为对照品溶液, 备用。

2.3.2 测定波长的选择: 将供试品溶液和对照品溶液分别在紫外可见分光光度计上进行光谱扫描。两者的紫外吸收光谱基本一致, 在 257、350 nm 处各有一最大吸收峰, 并且 350 nm 处产品中的其他成分的紫外吸收较小, 故选择检测波长为 350 nm。

2.3.3 样品测定: 精密吸取苣荬草苷对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、4.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 使混匀。按分光光度法, 在 350 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 进行线性回归。其回归方程为 $Y = 32.31X + 0.008468$, $r = 0.9999$ 。取供试品溶液依法在 350 nm 处测定吸光度, 代入回归方程, 计算金莲花