

20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 抗肿瘤活性强于 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} , 因此可以考虑采用适当的方法和手段, 使 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 构型转化为 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 构型, 以提高活性更强的 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 的产率。

试验结果还显示, 参一胶囊中主要含有 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} , 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 构型含量很低, 主成分含量达标示量的 95% 以上, 能完全保证产品的质量。

3.3 试验中曾使用了乙腈-异丙醇-水, 乙腈-水-醋酸等多种不同的流动相组分和配比, 均未实现 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 和 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} 的基线分离, 最后在乙腈-水系统中加入 0.01% 磷酸, 获得较好的分离效果。

本色谱分离系统采用 DAD 为检测器, 以乙腈-

0.01% 磷酸水溶液作梯度洗脱, 在 203 nm 处测定 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 和 20(R)-人参皂苷 R_{g_3} , 避免了溶剂末端吸收的影响, 但检测限较高; 若能将该分离系统结合通用检测器 ELSD, 则既可提高检测灵敏度, 又可达到基线分离的目的。

References:

- [1] Zhao Y. Advance in studies on anticarcinogenic effects of 20(R)-ginsenoside R_{g_3} [J]. *Chin Clin Oncology* (临床肿瘤学杂志), 2001, 6(1): 81-82.
- [2] Kwon SW, Han SB, Park IH, *et al* Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 921: 335-339.
- [3] Jeong S I, Kim C S, Lee Y G, *et al* Separation of 20(R) and 20(S) prosapogenin isomers of ginsenoside- R_{g_2} and- R_{g_3} from ginseng saponins by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *Anal Sci*, 1998, 11(5): 404-408.
- [4] Park M K, Park J H, Han S B, *et al* High-performance liquid-chromatographic analysis of ginseng saponins using evaporative light-scattering detection [J]. *J Chromatogr A*, 1996, 736(1-2): 77-81.

金芍抗病毒胶囊中绿原酸及总酚酸的含量测定

茅仁刚¹, 林东昊¹, 陶建生², 胡 岗^{1*}

(1. 上海师范大学, 上海 200234; 2. 上海中医药大学, 上海 200032)

金芍抗病毒胶囊由金银花、赤芍、柴胡等组成, 是采用大孔树脂精制工艺制备的现代中药复方制剂, 具有较显著的抗病毒活性, 适用于病毒性感冒的治疗。金银花为方中君药, 绿原酸是其中的主要活性成分。本实验采用 RP-HPLC 和紫外分光光度法分别对制剂中的绿原酸和总酚酸进行了定量分析。

1 仪器与材料

日本岛津 UV-2401PC 紫外-可见分光光度计; 日本岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪, SPD-6A V 紫外检测器, CR-4A 数据处理器。

绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0753-200111), 乙腈、甲醇为色谱纯, 盐酸为分析纯。金芍抗病毒胶囊由本实验室自行制备。

2 方法与结果

2.1 绿原酸的 HPLC 法含量测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱: Luna C₁₈ ODS (2) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (18:82, 以 H₃PO₄ 调节 pH 2); 检测波长: 327 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取绿原酸对照品 2.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用 0.05 mol/L 盐酸溶解, 定容。临用前过 0.45 μm 滤膜, 续滤液作为绿原酸对照品溶液 (100 μg/mL)。

2.1.3 供试品溶液的制备: 取金芍抗病毒胶囊 10 粒, 倾出内容物, 混匀, 精密称取 25 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 0.05 mol/L 盐酸, 超声 30 min 使溶解, 定容。临用前过 0.45 μm 滤膜, 续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 线性关系考察: 取绿原酸对照品溶液, 依次配制成浓度为 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 μg/mL 的溶液, 分别取上述溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 在上述色谱条件下进行色谱分析。以对照品溶液浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制绿原酸的标准工作曲线, 得线性回归方程为 $Y = 1.621 \cdot 1X - 767.3$, $r = 0.9999$ 。绿原酸在 5~100 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验: 精密吸取绿原酸对照品溶液 (60 μg/mL), 连续进样 5 次, 每次 20 μL, 按上述色

* 收稿日期: 2003-05-13

作者简介: 茅仁刚 (1968—), 男, 硕士, 工程师, 执业药师, 现任上海师范大学新康制药厂技术副厂长, 主要从事中药、天然产物活性成分和制剂研究。Tel: (021) 64322290 E-mail: rgnao@eastday.com

谱条件测定绿原酸峰面积, 结果其 RSD 为 1.38% ($n=5$)。

2.1.6 稳定性试验: 精密吸取绿原酸对照品溶液 ($60\text{ }\mu\text{g/mL}$), 每隔 1 h 进样 1 次, 每次 $20\text{ }\mu\text{L}$, 按上述色谱条件测定峰面积。结果供试品溶液在 5 h 内基本稳定, RSD 为 1.73% ($n=6$)。

2.1.7 重现性试验: 精密称取金芍抗病毒胶囊内容物 25 mg, 共 5 份, 按供试品溶液制备方法操作, 每次进样 $20\text{ }\mu\text{L}$, 按上述色谱条件测定绿原酸峰面积, 结果其 RSD 为 1.48% ($n=5$)。

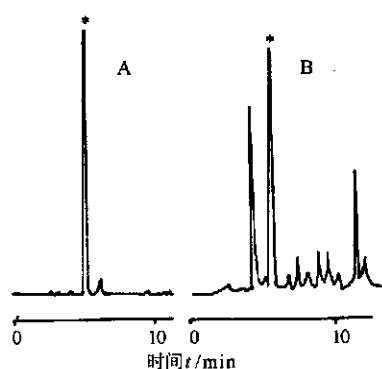
2.1.8 加样回收率试验: 精密称取金芍抗病毒胶囊内容物 5 g, 共 5 份, 分别置于 25 mL 量瓶中, 各加入 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 绿原酸对照品溶液 5 mL, 按供试品溶液制备方法进行操作, 按上述色谱条件进样 $20\text{ }\mu\text{L}$, 结果平均回收率为 100.66%, RSD 为 3.09% ($n=5$)。

2.1.9 样品含量测定: 精密称取 3 批金芍抗病毒胶囊内容物各 25 mg, 按供试品溶液制备方法操作, 按上述色谱条件分别进样 $20\text{ }\mu\text{L}$ 分析, 根据标准曲线计算绿原酸的含量, 结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 金芍抗病毒胶囊中绿原酸的含量 ($n=3$)

Table 1 Content of chlorogenic acid in Jinshao Antiviral Capsula ($n=3$)

批号	绿原酸/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
20020301	22.78
20020302	23.02
20020303	23.53



* - 绿原酸
* - chlorogenic acid

图 1 绿原酸对照品(A)和供试品(B)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of chlorogenic acid reference substance (A) and sample (B)

2.2 总酚酸的紫外分光光度法含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取绿原酸对照品 4.1 mg , 置 50 mL 量瓶中, 用 0.2 mol/L 盐酸溶解, 定容, 作为绿原酸对照品溶液 ($82\text{ }\mu\text{g/mL}$)。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取金芍抗病毒胶囊 10 粒, 倾出内容物, 混匀, 精密称取 20 mg , 置 25 mL 量瓶中, 加适量 0.2 mol/L 盐酸, 超声 10 min , 定容。精密移取 2 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用 0.2 mol/L 盐酸定容, 作为供试品溶液。

2.2.3 检测波长的选择: 将绿原酸对照品溶液和供试品溶液于 $200\sim 400\text{ nm}$ 进行扫描, 对照品溶液和供试品溶液在 323.5 nm 处均有最大吸收, 故检测波长选择为 323.5 nm 。

2.2.4 线性关系考察: 精密吸取绿原酸对照品溶液 $0, 1, 2, 4, 6, 8\text{ mL}$ 分别置于 25 mL 量瓶中, 用 0.2 mol/L 盐酸定容, 以对照品溶液浓度 C 为纵坐标, 吸光度 A 为横坐标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程为 $C=20.71A-0.0584$, $r=1.0000$ 。绿原酸在 $3.28\sim 26.24\text{ }\mu\text{g/mL}$ 呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验: 取绿原酸对照品溶液 ($13.12\text{ }\mu\text{g/mL}$) 于 323.5 nm 处测定吸光度, 连续测定 5 次, 结果 RSD 为 0.82% ($n=5$)。

2.2.6 稳定性试验: 取供试品溶液每隔 1 h 于 323.5 nm 处测定吸光度, 结果供试品溶液在 4 h 内稳定, RSD 为 0.76% ($n=5$)。

2.2.7 重现性试验: 精密称取金芍抗病毒胶囊内容物 20 mg , 共 5 份, 按供试品溶液制备方法操作, 于 323.5 nm 测定吸光度, 结果 RSD 为 0.28% ($n=5$)。

2.2.8 加样回收率试验: 精密称取金芍抗病毒胶囊内容物 10 mg , 置于 25 mL 量瓶中, 加 0.2 mol/L 盐酸适量, 加入 $82\text{ }\mu\text{g/mL}$ 绿原酸对照品溶液 6.5 mL , 按供试品溶液制备方法操作, 于 323.5 nm 处测定吸光度, 结果平均回收率为 98.40%, RSD 为 1.05% ($n=5$)。

2.2.9 样品含量测定: 精密称取金芍抗病毒胶囊内容物约 20 mg , 按供试品溶液制备方法操作, 根据标准曲线计算出制剂中总酚酸的含量, 结果见表 2。

表 2 金芍抗病毒胶囊中总酚酸的含量 ($n=3$)

Table 2 Content of total phenol acid in Jinshao

批号	总酚酸/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
20020301	68.24
20020302	68.44
20020303	71.33

3 讨论

3.1 绿原酸为咖啡酸和奎尼酸组成的缩酚酸, 是金银花的主要有效成分。金银花中除含绿原酸(3-咖啡酰奎尼酸)外, 还有 3, 5-二咖啡酰奎尼酸, 3, 4-二咖啡酰奎尼酸和 4, 5-二咖啡酰奎尼酸等多种绿原酸的

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。

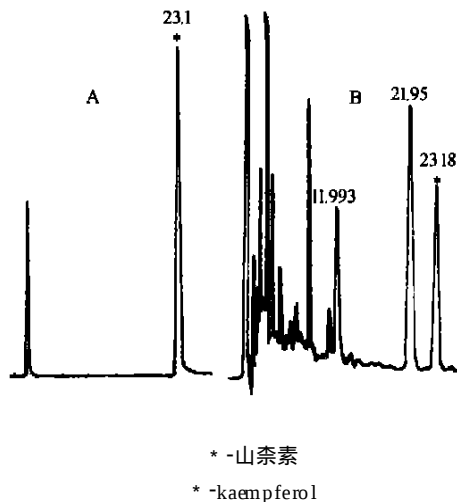


图 1 山柰素对照品(A)和金刚藤颗粒(B)的 HPLC 图谱

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