

- 社, 1999.
- [3] Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. Anal Biochem, 1973, 54: 484-489.

- [4] Galambos J T. The reaction of carbazole with carbohydrates. I. Effect of borate and sulfamate on the carbazole color of sugars [J]. Anal Biochem, 1967, 19: 119-132.

## HPLC法测定不同干燥方法的贯叶连翘中黄酮类化合物的含量

钱秋霞<sup>1</sup>, 丛晓东<sup>2\*</sup>

(1. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210038; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003)

**摘要:** 目的 研究 HPLC 测定条件, 并测定不同干燥方法贯叶连翘中黄酮类化合物芦丁、金丝桃苷的含量。方法 色谱柱: Discovery C<sub>18</sub> (5  $\mu$ m, 25 cm $\times$  4.6 mm); 流动相: 水-乙腈-磷酸 (825: 175: 1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 365 nm。结果 60 $^{\circ}$ C 烘干 4 h 贯叶连翘中芦丁和金丝桃苷的含量最高, 总含量可达到 1.677%。芦丁的线性范围为 0.107~2.675  $\mu$ g, 平均回收率为 99.32%,  $RSD=1.007\%$ , 金丝桃苷的线性范围为 0.107~2.675  $\mu$ g, 平均回收率为 99.54%,  $RSD=3.591\%$ 。结论 该方法分析简便、灵敏、迅速、准确。

**关键词:** HPLC; 贯叶连翘; 芦丁; 金丝桃苷

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)05-0407-03

## Determination of flavonoids in *Hypericum perforatum* processed by different methods of drying by HPLC

QIAN Qiu-xia<sup>1</sup>, CONG Xiao-dong<sup>2</sup>

(1. College of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 210038, China; 2. Shandong Engineering Research Center of Natural Drugs, Yantai Shandong 264003, China)

**Abstract Object** To develop a method for the determination of flavonoids in *Hypericum perforatum* L. processed by different drying methods to provide a basis for the processing of the natural herbs. **Methods** The chromatographic conditions were Discovery C<sub>18</sub> column (5  $\mu$ m, 4.6 mm $\times$  25 cm), detection wavelength 365 nm; mobile phase: water: acetonitrile: phosphoric acid (825: 175: 1); flow rate 1.0 mL/min. **Results** The contents of rutin and hyperin were at their maximum when dried at 60 $^{\circ}$ C for 4 h. Rutin had a good linearity in the range of 0.107~2.675  $\mu$ g, average recovery rate 99.32%,  $RSD=1.007\%$ , and hyperin in the range of 0.107~2.675  $\mu$ g, average recovery rate 99.54%,  $RSD=3.591\%$ . **Conclusion** Temperature is the main factor influencing the content of flavonoids. The HPLC determination was shown to be rapid, reliable and simple, and may be used for the quality control of *H. perforatum*.

**Key words** HPLC; *Hypericum perforatum* L; rutin; hyperin

贯叶连翘 *Hypericum perforatum* L. 是藤黄科金丝桃属植物, 含有多具生物活性的化学成分, 其中主要是苯并二萜酮类化合物、金丝桃素和伪金丝桃素; 多种黄酮类化合物, 如芦丁、槲皮素和金丝桃苷; 间苯三酚类化合物如贯叶金丝桃素和加贯叶金丝桃素 (拟) 以及挥发油和 xanthone 类化合物等。

对贯叶连翘的质量分析多有报道, 大多以金丝桃素为质量指标, 而金丝桃素含量很低, 尚不能反映药材质量。本文以黄酮类化合物芦丁 (rutin)、金

丝桃苷 (hyperin) 为质量指标, 建立了同时测定芦丁、金丝桃苷的 HPLC 含量测定方法, 该方法快速简便, 稳定性和重现性好, 可用于药材的质量控制。并测定了不同干燥方法贯叶连翘中黄酮类化合物的含量, 探讨了温度对贯叶连翘中黄酮类化合物的影响, 为药材的加工、炮制提供一定的理论依据。

### 1 仪器与试剂

色谱仪: Spectra SYSTEM P1000 高效液相色谱仪, Spectra 100 紫外可见光检测器; 色谱工作站:

\* 收稿日期: 2000-11-29

作者简介: 钱秋霞, 女, 1996年毕业于南京中医药大学, 现为中国药科大学 98级研究生, 专业生药学, 研究方向为天然药物分析及质量标准化研究

分析之星 芦丁、金丝桃苷对照品(中国药品生物制品检定所),贯叶连翘药材采自山东绿叶制药股份有限公司植物园。实验用甲醇、乙腈均为色谱纯,水为重蒸馏水

2 色谱条件

色谱柱: Discovery C<sub>18</sub>(5 μ m, 4.6 mm× 25 cm, 北京康乐林科技有限公司);流动相: 水-乙腈-磷酸(825∶ 175∶ 1);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 365 nm;柱温: 室温(27℃)。

3 方法与结果

3.1 线性关系的考察: 精密称定芦丁对照品 10 mg 金丝桃苷 10 mg,分别定容于 10 mL 甲醇中得溶液 I、II。将溶液 I、II 稀释 10 倍,吸取 1, 5, 10, 15, 20, 25 μ L 分别进样测定,以进样量(μ g)为横坐标 X,峰面积积分值为纵坐标 Y,进行线性回归得回归方程  $Y_{\text{芦丁}} = 742\,539.6X - 10\,582.8 (r = 0.999\,6)$ ,线性范围 0.107~ 2.675 μ g;  $Y_{\text{金丝桃苷}} = 1\,025\,968X + 23\,329.23 (r = 0.999\,4)$ ,线性范围 0.107~ 2.675 μ g 色谱图见图 1, 2

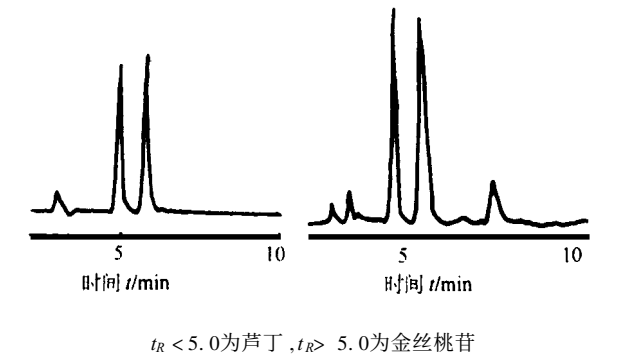


图 1 对照品 HPLC 图 图 2 样品 HPLC 图

3.2 样品溶液的制备: 取贯叶连翘药材室温下阴干,于烘箱中在 60℃, 80℃, 100℃ 烘 4, 8, 12 h,进行正交实验,得 9 组样品(表 1)。药材粉碎过 40 目筛,精密称定 0.5 g,定量加入 20 mL 甲醇,超声 30 min,静置,过滤, 5 μ L 进样。

表 1 正交试验设计因素水平表

| 水平 | 因素      |         |
|----|---------|---------|
|    | A 温度(℃) | B 时间(h) |
| 1  | 60      | 4       |
| 2  | 80      | 8       |
| 3  | 100     | 12      |

3.3 精密度实验: 按对照品溶液的制备项下操作,配制一定浓度的标准溶液,连续进样( $n = 5$ ),芦丁和金丝桃苷的平均  $RSD(\%)$  分别为 0.438, 1.671 表明仪器符合要求

3.4 稳定性实验: 制备芦丁和金丝桃苷的混标溶液,分别于 1, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定,芦丁和金丝桃苷在 10 h 内稳定

3.5 重现性试验: 取样品按拟定方法制备供试品溶液测定,芦丁与金丝桃苷的平均  $RSD(\%)$  分别是 0.343, 0.423 说明方法的重现性良好。

3.6 回收率试验: 精密称取适量已知含量的贯叶连翘样品,加入适量芦丁、金丝桃苷,按样品溶液的制备项下操作,芦丁的平均回收率为 99.32%, 金丝桃苷的平均回收率为 99.5%,  $RSD(\%)$  分别为 1.007, 3.597

3.7 含量测定: 本文共测定了 10 组样品,结果见表 2, 3

3.8 结论: 正交试验结果分析表明温度是影响黄酮

表 2 不同干燥方法贯叶连翘中黄酮类化合物含量测定结果 (%)

| 编号 | 温度 A           | 时间 B           | 芦丁    | 金丝桃苷  | 芦丁+ 金丝桃苷 |
|----|----------------|----------------|-------|-------|----------|
| 1  | A <sub>1</sub> | B <sub>1</sub> | 0.823 | 0.855 | 1.678    |
| 2  | A <sub>1</sub> | B <sub>2</sub> | 0.822 | 0.827 | 1.649    |
| 3  | A <sub>1</sub> | B <sub>3</sub> | 0.774 | 0.765 | 1.539    |
| 4  | A <sub>2</sub> | B <sub>1</sub> | 0.632 | 0.637 | 1.269    |
| 5  | A <sub>2</sub> | B <sub>2</sub> | 0.585 | 0.612 | 1.197    |
| 6  | A <sub>2</sub> | B <sub>3</sub> | 0.699 | 0.726 | 1.425    |
| 7  | A <sub>3</sub> | B <sub>1</sub> | 0.596 | 0.612 | 1.208    |
| 8  | A <sub>3</sub> | B <sub>2</sub> | 0.621 | 0.636 | 1.257    |
| 9  | A <sub>3</sub> | B <sub>3</sub> | 0.607 | 0.634 | 1.241    |
| 10 | 室温(27℃)阴干      |                | 0.591 | 0.616 | 1.207    |

表 3 正交试验结果方差分析

|                | 芦丁    |       | 金丝桃苷  |        | 芦丁+ 金丝桃苷 |       |
|----------------|-------|-------|-------|--------|----------|-------|
|                | 温度 A  | 时间 B  | 温度 A  | 时间 B   | 温度 A     | 时间 B  |
| K <sub>1</sub> | 2.419 | 2.051 | 2.447 | 2.104  | 4.866    | 4.155 |
| K <sub>2</sub> | 1.916 | 2.028 | 1.975 | 2.075  | 3.891    | 4.103 |
| K <sub>3</sub> | 1.824 | 2.08  | 1.882 | 2.125  | 3.706    | 4.205 |
| k <sub>1</sub> | 0.806 | 0.684 | 0.816 | 0.702  | 1.622    | 1.385 |
| k <sub>2</sub> | 0.638 | 0.676 | 0.658 | 0.691  | 1.297    | 1.368 |
| k <sub>2</sub> | 0.608 | 0.693 | 0.627 | 0.708  | 1.235    | 1.402 |
| R              | 0.198 | 0.017 | 0.188 | 0.0167 | 0.387    | 0.034 |

类化合物含量的主要因素,干燥时间影响不大。在 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> 条件即 60℃ 干燥 4 h 黄酮类化合物芦丁和金

丝桃苷的含量达到最高。在一定温度范围内黄酮类化合物含量随温度变化先升高后降低

## 4 讨论

在摸索提取条件时,我们采取了加热回流、冷浸和超声波震荡等提取方法,结果超声波提取方法方便、迅速,提取完全。

参考文献:

[1] Christopher H. 贯叶金丝桃的研究[J]. 国外医药-植物药分册, 1990, 5(4): 150-154.

- [2] 刘一兵. 贯叶金丝桃研究进展I-原植物、采收、制剂和化学成分[J]. 国外医药-植物药分册, 1998, 13(3): 99-104.
- [3] 朱晓薇. 贯叶金丝桃研究进展II-药代动力学、药效学和临床应用[J]. 国外医药-植物药分册, 1998, 13(4): 153-156.
- [4] 朱晓薇. 贯叶金丝桃研究进展II-药代动力学、药效学和临床应用(续)[J]. 国外医药-植物药分册, 1998, 13(5): 210-214.
- [5] 王慕邹. 常用中草药高效液相色谱分析[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [6] 沙明, 黄爱民, 杨松松. 高效液相色谱法测定朝鲜淫羊藿中金丝桃苷的含量[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(6): 357-258.

# HPLC法测定更年安片中五味子甲素和五味子乙素的含量

崔兰贵, 王火, 朱铁梁, 刘明琴, 刘继铁, 胡迎庆, 陈虹\*

(武警医学院, 天津 300162)

**摘要:** 目的 测定更年安中五味子甲素和五味子乙素的含量。方法 样品用环己烷超声提取, 过滤, 蒸干。残渣用乙腈-甲醇(1:1)溶解后, 经 HPLC 仪测定。色谱柱: Phenomenex C<sub>18</sub> 柱(5 $\mu$ m, 250 mm $\times$  4.6 mm), 柱温 22 $^{\circ}$ C, 流动相: 乙腈-甲醇-水(15:15:10), 检测波长: 254 nm。结果 更年安中五味子甲素和五味子乙素与其它成分分离良好, 保留时间分别约为 14.6 和 19.1 min。五味子甲素对照品线性浓度范围 1.0~80 $\mu$ g/mL,  $r=0.9996$ , 平均回收率为 96.5%,  $RSD$  为 3.28% ( $n=5$ )。五味子乙素对照品线性浓度范围 1.0~80 $\mu$ g/mL,  $r=0.9998$ , 平均回收率为 94.7%,  $RSD$  为 3.49% ( $n=5$ )。结论 本法灵敏度高, 操作简便, 结果准确, 可用于更年安中五味子甲素和五味子乙素的含量测定。

**关键词:** 更年安; 五味子甲素; 五味子乙素; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)05-0409-03

## Determination of deoxyschizandrin and schisandrin B in GENGNIAN'AN\* TABLET by HPLC

CUI Lan-gui, WANG Huo, ZHU Tie-liang, LIU Ming-qin, LIU Ji-tie, HU Ying-qing, CHEN Hong

(Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

**Abstract** **Object** To determine the concentration of deoxyschizandrin and schisandrin B in GENGNIAN'AN TABLET by HPLC. **Methods** Samples of GENGNIAN'AN TABLET were extracted with cyclohexone with the aid of supersonic wave, filtered and the filtrate evaporated to obtain a residue which was dissolved in methanol-acetonitrile (1:1) and determined by HPLC using Phenomenex C<sub>18</sub> (5 $\mu$ m, 250 mm $\times$  4.6 mm) at a column temperature of 22 $^{\circ}$ C, methanol-acetonitrile-water (15:15:10) was used as the mobile phase, and detected at a wavelength of 254 nm. **Results** The peaks of deoxyschizandrin and schisandrin B appear at about 14.6 min and 19.1 min. The standard curves of both deoxyschizandrin and schisandrin B showed linearity in the concentration range of 1.0~80 $\mu$ g/mL, and their  $r=0.9996$  and  $r=0.9998$ . The average recovery rate of deoxyschizandrin and schisandrin B were 96.5%  $RSD$  3.28% ( $n=5$ ) and 94.7%  $RSD$  3.49% ( $n=5$ ) respectively. **Conclusion** This method was found to be sensitive, quick and accurate for the determination of deoxyschizandrin and schisandrin B in GENGNIAN'AN TABLET.

**Key words** GENGNIAN'AN TABLET, deoxyschizandrin; schisandrin B; HPLC

\* GENGNIAN'AN is a traditional folk prescription containing *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and many other herbal drugs for the treatment of discomforts during climacterium.

更年安片收载于《中华人民共和国药典》1990年版, 由熟地黄、何首乌、泽泻、茯苓、五味子、珍珠

母、玄参、夜交藤、浮小麦等味药经加工而成, 具有滋阴清热、除烦安神等功能, 用于治疗更年期出现的潮

\* 收稿日期: 2000-12-26

作者简介: 崔兰贵(1955-), 男, 河北平山县人, 大学文化, 主管药师。现为武警医学院附属医院药剂科副主任。研究方向: 药物制剂。