定该波长为检测波长。

3.3 使用了① 甲醇-水 (60∶ 40)、② 甲醇-水-醋酸 (300∶ 200∶ 3)、③ 甲醇-水-醋酸 (25∶ 70∶ 30)和④ 乙腈-0.1% 磷酸-三乙胺 (80∶ 919∶ 1) 4种流动相,发现以② 及④ 较理想,考虑到试剂价格问题,选择② 作为流动相。对流动相的流速,开始采用 1 mL/min,结果保留时间不太满足,后改用 0.3 mL/min。

3.4 曾用氯仿-水萃取提取咖啡因,发现有絮状物粘于器皿壁,影响萃取效果,用氯仿作溶剂进行连续提取咖啡因,时间太长。以本法提取,含量测定结果准确,平均回收率为 97.97%。对样品分析结果表明阴性对照液基本不干扰咖啡因的测定。

从实验结果来看,本法灵敏度高、稳定性好、重现性好、精密度、回收率都较满意,因此可作为解热镇痛栓的质量控制方法。

References:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol Ⅰ.

[2] Liu F J. Determination of caffeine in ten polyphenols by TLCS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (1): 20-21.

[3] Ni C P. Determination of the content of caffeine in mistura caffeine et bromidi by double-wave length spectrophotometry [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1994, 9(6): 248-250.

[4] Chen H T. Determination of the content of caffeine and sodium benzoate in Zhiyilin by K-ration spectrophotometry method [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1994, 14(9): 413-414.

[5] He M S. Determination of caffeine in Tankejing by high-performance liquid chromatography [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1994, 14(9): 391-393.

青风藤单提及与其他药味共提对青藤碱提取率的影响

潘林梅,陈丹丹,董 洁,郭立玮*

(南京中医药大学 植物药深加工工程中心,江苏 南京 210029)

一常用抗内风湿关节炎的验方中含有青风藤、雷公藤、[illegible]草 3味中药,该方用于治疗风湿痹痛、关节肿胀等病证,临床疗效显著。青风藤为本方的君药,青藤碱为青风藤中的主要有效成分之一。为了对该方剂进行更深入地开发,本实验对青风藤药材进行了含量测定研究,并考察了该复方中青风藤单提及与雷公藤、[illegible]草共提时的青藤碱提取率的变化,为该方提取工艺路线的制定提供依据。

1 实验材料

高效液相色谱仪: Waters 515泵, Waters 2487可调节紫外-可见检测器, Waters U6K进样器,中国科学院大连物理化学研究所 WDL-95色谱工作站, H66025超声清洗机 (无锡市超声电子设备厂)。

药材均购自南京市药材公司,经南京中医药大学中药鉴定教研室吴启南副教授鉴定,青风藤为防己科植物青藤 *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils.的干燥藤茎;雷公藤为卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f.的干燥根及根茎;[illegible]草为菊科植物[illegible] *Siegesbeckia orientalis* L.、腺梗[illegible] Siegesbeckia pubescens Makino或毛梗[illegible] Siegesbeckia glabrescens Makino的干燥地上部分。

青藤碱对照品 (批号 0774-9904,供含量测定用),经检测其纯度在 99%以上,由中国药品生物制品检定所提供。

甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil 反相 C_{18} (4.6 mm× 250 mm, 5 μm) (淮阴汉邦科技);流动相: 甲醇-水-乙二胺 (55∶ 45∶ 0.2);检测波长: 262 nm;柱温: 室温;流量: 1.0 mL/min;灵敏度: 0.5 AUFS;理论塔板数按青藤碱峰计算应不低于 2 000,在此条件下,青藤碱与其他组分达到基线分离。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取干燥至恒重的青藤碱对照品 3.40 mg,置 10 mL量瓶中,加甲醇溶解并至刻度,即得。

2.3 线性关系考察: 取对照品溶液依次加甲醇稀释为 170, 85, 42.5, 21.25, 10.626 μg/mL, 5 μL进样,按上述色谱条件测定峰面积。以青藤碱浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标绘制标准曲线,计算得回归方程为 $Y = 3.973 \times 10^6 X + 8\,720.897$, $r = 0.999\,9$。表

* 收稿日期: 2003-03-26

作者简介: 潘林梅 (1971—),女,江苏扬州人,助理研究员,硕士,毕业于南京中医药大学,主要从事中药制剂及新品研发工作。
Tel (025) 6798397 E-mail: plmlj@sohu.com

明青藤碱在 0.053~ 1.7μg具有良好的线性关系.

2.4 药材含量测定

2.4.1 药材供试液制备: 取青风藤药材粉末 (过 80目筛),精密称取 0.5 g置具塞锥形瓶中,精密加入 70%甲醇 20 mL,密塞,称重,超声处理 (功率 250 W,频率 20 kHz) 20 min,放冷,再称定质量,用 70%甲醇补足减少的质量,摇匀,滤过,上清液过 0.2μm微孔滤膜,作为药材供试液.

2.4.2 精密度考察: 精密吸取对照品溶液,依法重复进样 6次检测,测定青藤碱峰面积,结果其 RSD为 1.23% (n= 6).

2.4.3 稳定性考察: 药材供试液间隔 1 h测定青藤碱峰面积 1次,共测 6次,结果表明,供试品溶液中青藤碱在 5 h内稳定,其 RSD为 2.13% (n= 6).

2.4.4 加样回收率试验: 精密称取 6份已知青藤碱含量 (0.68%)的青风藤药材约 0.1 g,分别加入青藤碱对照品适量,按上述方法提取并测定,计算加样回收率,结果平均收率为 97.05%, RSD为 1.62% (n= 6).

2.4.5 药材含量测定结果: 精密称取药材粉末 0.5 g 3份,依法制备并测定青藤碱的含量,结果青风藤中青藤碱含量为 0.67%。

2.5 不同配伍测定结果: 遵照原处方中的各药味间的量的比例,按以下方案进行实验: 青风藤单提 (方法Ⅰ);青风藤与雷公藤按 3∶1比例共提 (方法Ⅱ);青风藤与[illegible]草按 1∶1比例共提 (方法Ⅲ);青风藤、雷公藤与[illegible]草按 3∶1∶3比例共提 (方法Ⅳ);雷公藤与[illegible]草按 1∶3比例共提 (方法Ⅴ).

以上几种组合,各称取青风藤 150 g 雷公藤 50 g,[illegible]草 150 g饮片,分别加 70%乙醇提取两次,第 1次加 6倍量的醇,回流提取 2 h,第 2次加 4倍量的醇,回流提取 2 h,滤过,合并,浓缩,使提取液含生药量 0.1 g/mL。各取上述样品液 2 mL,离心,上清液过 0.2μm微孔滤膜,进样测定,结果见表 1和图 1.

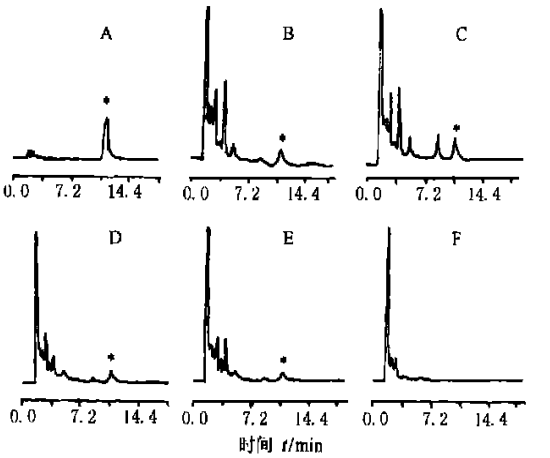
$$\text{提取率} = \frac{\text{配伍样品中青藤碱含量}}{\text{药材中青藤碱的含量}} \times 100\%$$

表 1 青风藤及其不同配伍中青藤碱提取率测定结果 (n= 3)

Table 1 Extraction rate of sinomerine of *Caulis Sinomenii* and its different combinations (n= 3)

样品液	提取率 /%	样品液	提取率 /%
原药材	100.00	Ⅲ	68.58
Ⅰ	88.43	Ⅳ	64.96
Ⅱ	92.86	Ⅴ	—

从结果可以看出,青风藤与雷公藤共提时,样品中青藤碱的提取率达 92.86%,高于青风藤饮片单独提取时的提取率 88.43%,而青风藤与[illegible]草及 3味药共提时的提取率分别仅有 68.58%和 64.96%,有一定的下降,[illegible]草与雷公藤共提药液中未检出青藤碱的峰,说明在此处没有干扰成分.



* 青藤碱

* -sinomerine

A-青藤碱对照品 B-青风藤单提 C-青风藤与雷公藤共提 D-青风藤与[illegible]草共提 E-青风藤、雷公藤与[illegible]草共提 F-雷公藤与[illegible]草共提

A-sinomerine reference substance B-*Caulis Sinomenii* C-*Caulis Sinomenii* and *Rhizoma Tripterygii* D-*Caulis Sinomenii* and *Herba Siegesbeckiae* E-*Caulis Sinomenii*, *Rhizoma Tripterygii* and *Herba Siegesbeckiae* F-*Rhizoma Tripterygii* and *Herba Siegesbeckiae*

图 1 青藤碱及各配伍的 HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of sinomerine and *Caulis Sinomenii* with its different combinations

3 讨论

3.1 本方中药材青风藤中主要有效成分以生物碱为主,其中青藤碱 (sinomerine)的含量较高,其基本母核为吗啡烷,脂溶性较好,故选择溶媒时以不同浓度的醇来比较,结果以 70%乙醇提取最好,有效成分的转移率高.

3.2 文献报道[1],雷公藤中的有效成分较复杂,有雷公藤甲素 (tripterifordine)等内酯成分,也有雷公藤碱 (wilfordine)等生物碱类成分,[illegible]草中的主要有效成分有萜内酯、苷类,并含有一定的酸性物质,如[illegible]萜内酯 (orientin),[illegible]酯酸 (*ent*-17-acetoxy-18-isobutyryloxy-16α-kauran-19-oic acid),[illegible]醚酸 (*ent*-17-ethoxy-16α-kauran-19-oic acid)、大花沼兰酸 (grandifloric acid)等[2],这种配伍时的含量变化可能与其中某些碱性或酸性成分反应变化有关,方中雷公藤及 [illegible]草的成分变化及相关的机制有待

深入研究。

3.3 根据实验结果,为提高君药青风藤中主要有效成分青藤碱提取率,在制定本复方提取工艺路线时,拟以青风藤与雷公藤共提,其他药味另行处置为好。

References:

[1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Vol 5. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1999.

[2] Guo D A, Zhang Z G, Ye G Q, *et al*. Studies on liposoluble constituents from the aerial parts of *Siegesbeckia orientalis* L. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1997, 32(4): 282-285.

HPLC法测定藤茶中双氢杨梅黄素和杨梅黄素的含量

李瑛琦[1],于治国[1],陆文超[2*]

(1. 沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学制药工程学院,辽宁 沈阳 110016)

藤茶系葡萄科蛇葡萄属显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W. T. Wang的嫩茎叶经传统加工揉制、干燥而成[1]。该植物主要分布于湖南、湖北、广西、广东、云南、贵州、江西、福建等省区[2]。其主要成分为双氢杨梅黄素(DIH)和杨梅黄素(MYR)[3]。DIH具有明显拮抗去甲肾上腺素和高 K^+ 所致的兔胸主动脉条收缩反应及钙拮抗作用,且毒性很低[4,5],并有祛痰止咳,降血脂和保肝等作用[6]。MYR有抗菌、抗癌、止咳、祛痰、利尿等作用[7]。目前已报道的该药材中黄酮醇类化合物含量测定方法有薄层扫描法[8]和分光光度法[9]。本实验建立了一种同时测定药材中DIH和MYR的HPLC方法,并对不同产地的药材进行了含量测定,为今后对藤茶的进一步研究及充分开发利用奠定了基础。

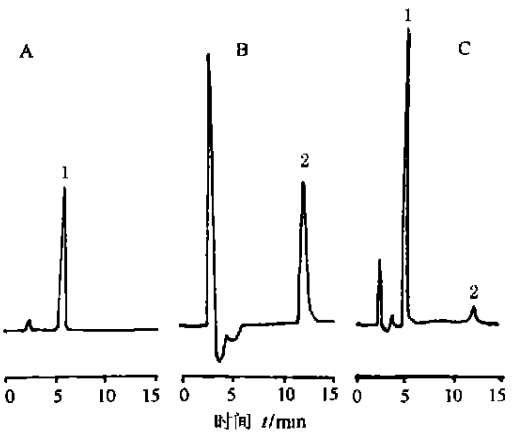
1 仪器、试剂与材料

岛津LC-10ATvp高效液相色谱仪,岛津SPD-10Avp紫外检测器,ANASTAR色谱工作站,DT-100光电天平。DIH和MYR对照品自制,经HPLC归一化法检查纯度高于99.0%;藤茶药材经沈阳药科大学生药学教研室孙启时教授鉴定。甲醇,乙腈为色谱纯,水为二次重蒸水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil ODS柱(250 mm×4.6 mm, 5μm);流动相:乙腈-2%冰醋酸(23∶77);流速:0.8 mL/min;检测波长:275 nm;柱温:室温;进样量:20μL。在此色谱条件下,对照品与样品的色谱图见图1。

2.2 对照品溶液制备:精密称取DIH 50 mg和MYR 5 mg,分别置于25 mL棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得到2 mg/mL DIH储备液和0.2 mg/mL MYR储备液。



1-双氢杨梅黄素 2-杨梅黄素

1-dihydromyricetin 2-myricetin

图1 双氢杨梅黄素(A)、杨梅黄素(B)和藤茶(C)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of dihydromyricetin (A), myricetin (B), and *A. grossedentata* (C)

精密称取DIH 500 mg和MYR 50 mg,分别置于25 mL棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得到20 mg/mL DIH储备液和2 mg/mL MYR储备液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取60℃干燥4 h的藤茶粉末0.5 g,加水25 mL煎煮2 h,趁热抽滤,滤渣加95%乙醇25 mL回流提取2 h,趁热抽滤,合并二次提取液,加95%乙醇50 mL放置过夜,抽滤,减压回收溶剂,残渣用甲醇25 mL溶解并稀释至刻

* 收稿日期:2003-02-25

作者简介:李瑛琦(1977-),女,吉林省吉林市人,沈阳药科大学英语药学专业毕业,现攻读药物分析专业硕士学位。Tel: (024) 23843711-3366 E-mail: 2000liyingqi@sina.com.cn