

References:

- [1] Ch P (中国药典 [S]. 2000 ed. Vol . .
- [2] Zhao L H. *Handbook of Components Analysis of Chinese Patent Medicine by HPLC* (高效液相色谱法分析中成药成分手册 [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House. 1994.
- [3] Gao X L, Yang N F. Determination of hypaconitine in Chuangshangling by high performance liquid chromatography [J]. *J Guiyang Med Coll* (贵阳医学院学报, 1998, 23(3): 1.
- [4] Liang M J, Yang G D, He L C. Study on extracting methods of imperatorin in *Radix Angelicae Dahurica* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药, 2000, 22(12): 12.

HPLC 法测定银杏叶缓释胶囊中总黄酮的含量

王淑君¹, 候薇², 张天政³, 陈济民¹, 毕殿洲^{1*}

(1. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳第一制药厂, 辽宁 沈阳 110023; 3. 盖州市中心医院, 辽宁 营口 115200)

银杏 *Ginkgo biloba* L. 为银杏科银杏属植物。银杏叶入药, 始载于明《本草品汇精要》, 性平, 味苦、涩, 敛肺平喘、止泻、活血止痛。银杏叶主要成分为黄酮类、内酯类化合物, 能够舒张冠脉, 改善血液循环, 降低心肌耗氧量, 降低钙离子内流, 抑制血小板聚集, 抗血栓、改善微循环、降低血液黏稠度。对心脑血管具有保护作用。对老年性痴呆具有良好的预防作用, 长期使用无不良反应^[1,2]。

我国目前有许多厂家对银杏叶制剂进行了开发, 主要有普通片剂、胶囊剂、口服液等。银杏叶制剂作为预防、治疗心脑血管疾病的良药, 需长期反复用药才能达到疗效。普通剂型的频繁给药必将给患者带来不便, 血药浓度的波动也将影响药物的疗效。本实验对制备的银杏叶缓释胶囊建立了 HPLC 法测定其中总黄酮的含量。结果表明本法准确、简便。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪, 484 紫外检测器, 江申色谱工作站。银杏叶缓释胶囊(沈阳药科大学药剂教研室, 槲皮素、山柰素、异鼠李素(中国药品生物制品检定所, 甲醇为色谱纯(山东禹王实业总公司, 磷酸等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

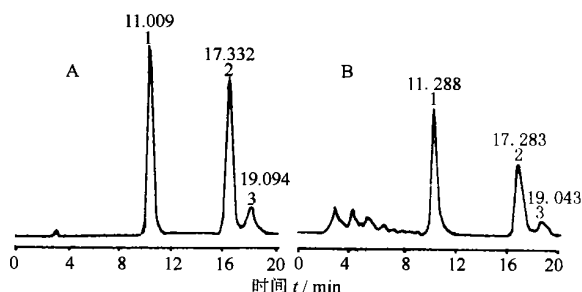
2.1.1 对照品溶液的制备: 分别精密称取经五氧化二磷干燥过夜的槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品适量, 各加甲醇制成 0.03, 0.03, 0.02 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备: 取胶囊 20 粒, 倾出内容物, 研细, 精密称取适量(约 400 mg, 精密加入甲醇 25 mL, 超声处理 20 min。滤过, 弃去初滤液, 精密量

取续滤液 5 mL, 加甲醇-25% 盐酸溶液(4:1 混合液 25 mL, 回流 30 min, 放冷, 转移至 50 mL 量瓶中, 并加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 色谱条件: 色谱柱: Spherisorb C₁₈ (4.6 mm × 250 mm; 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液(60:40; 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 360 nm。

2.3 专属性试验: 在此色谱条件下, 槲皮素、山柰素和异鼠李素色谱图见图 1。



1-槲皮素 2-山柰酚 3-异鼠李素

1-quercetin 2-kaempferol 3-isorhamnetin

图 1 混合对照品(A)和银杏叶缓释胶囊(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and Ginkgo Sustained-release Capsule (B)

2.4 标准曲线制备: 分别精密称取槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品各 10 mg 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 再分别稀释成浓度为 10, 20, 30, 40, 50 μg/mL 的溶液, 进样 10 μL。以峰面积(A)与浓度(C)做回归曲线, 线性范围为 10~50 μg/mL。回归方程为: 槲皮素: $Y = 135\,718X - 406\,491$, $r = 0.999\,3$; 山柰素: $Y = 91\,197X + 447\,751$, $r = 0.999\,8$; 异鼠李素: $Y = 166\,038X - 717\,919$, $r =$

0.999 7。

2.5 精密度试验: 取槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品溶液, 按上述色谱条件及检测方法连续进样 5 次, 每次 10 μ L, 测定峰面积, 计算 3 种溶液的浓度, 其 RSD 分别为 1.57%, 2.89%, 0.29%。

2.6 稳定性试验: 分别于 0, 2, 4, 6, 12 h 测定同一胶囊中槲皮素、山柰素、异鼠李素的含量, 每次进样 10 μ L, 其 RSD 分别为 0.35%, 3.68%, 0.54%。

2.7 回收率试验: 精密称取银杏叶缓释胶囊两份, 其中一份按含量测定方法测定其中黄酮醇苷元的含量, 另一份定量加入槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品, 混匀, 按含量测定方法测定各自含量, 计算回收率。结果平均回收率分别为 100.40%, 97.55%, 101.06%, RSD 分别为 1.01%, 2.25%, 2.09% ($n=5$)。

2.8 样品测定: 分别精密吸取上述 3 种对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算 3 种黄酮苷元的含量, 以下式换算成总黄酮的含量。测定结果见表 1。

总黄酮醇苷含量= (槲皮素含量+ 山柰素含量+ 异鼠李素含量 $\times$ 2.51

3 讨论

3.1 参照《中华人民共和国药典》及大量文献^[3], 用十八烷基键合硅烷胶为填充剂, 分别配制甲醇-

表 1 银杏叶缓释胶囊中总黄酮含量测定结果 ($n=2$)

Table 1 Content of total flavone in Ginkgo Sustained-release Capsule ($n=2$)

批号	总黄酮含量/ mg
010306	28.94
010307	29.62
010308	30.14

0.4% 磷酸水溶液不同比例的流动相。以 5 : 5 比例的出峰时间为 29 min, 随着甲醇比例的增加, 出峰时间缩短, 在 7 : 3 比例时出峰时间大约为 7 min, 但在此条件下样品中各种成分不能有效分离。在 6 : 4 比例时, 样品中各种成分能有效分离, 故流动相选择甲醇-0.4% 磷酸水溶液 (60 : 40)。

3.2 同一样品在不同超声时间、不同回流时间测定各成分峰面积, 结果超声提取时间为 20 min, 水解时间为 30 min 较好。

References:

[1] Lian F Y, Yang G F, Fu C S. Studies on active composition, pharmacology and clinical application of *Ginkgo biloba* [J]. *Shandong J Pharm* (山东医药工业, 1999, 18(4 : 14-15.

[2] Qian T X, Yang S L, Xu L Z. Research development of *Ginkgo biloba* [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册, 1997, 12(4 : 157-163.

[3] Lei T Q, Ye X L, Xiang L H, et al. Study on the determining method on ginkgo-flavone in *Ginkgo biloba* [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志, 2002, 33(2 : 70-72.

HPLC 法测定咳喘平口服液中麻黄碱的含量

谢 辉¹, 狄留庆², 毛春芹^{1*}

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 2. 江苏省海洋药物研究开发中心, 江苏 南京 210029

咳喘平口服液系根据江苏省中医院儿科名老中医的经验方生产加工制成, 处方中含有麻黄、半夏、鱼腥草、白果、地龙等多味中药, 临床治疗小儿热哮喘证疗效确切。麻黄系方中君药, 测定其有效成分麻黄碱的含量对咳喘平口服液的质量控制有重要意义。文献报道的麻黄碱含量测定方法有薄层扫描法、气相色谱法、高效液相色谱法^[1]等, 根据现有条件及 HPLC 法具有简便、灵敏、专属性强等优点, 本实验对 HPLC 法测定制剂中麻黄碱的含量进行了研究。

1 仪器及材料

Waters 高效液相色谱仪, 薄层色谱硅胶 G (青

岛海洋化工集团公司, 咳喘平口服液(本校药剂教研室提供, 盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所, 乙腈(HPLC, 江苏淮阴塑料制品厂化工研究所, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: 色谱柱为 Waters Nova-Pak C₁₈ 柱 (4 μ m, 3.9 mm $\times$ 150 mm, 流动相为乙腈-水 (40 : 60, 每 1 000 mL 含磷酸二氢钾 3.4 g 及十二烷基硫酸钠 1.7 g, 检测波长为 210 nm; 柱温为 25 $^{\circ}$ C, 流量为 1.0 mL/min。理论塔板数按麻黄碱计算不低于 6 000。

* 收稿日期: 2003-04-03
作者简介: 谢 辉(1970—, 女, 江苏南京市人, 硕士, 讲师, 主要研究方向: 中药制剂。Tel: (025 86798159