

摇匀, 即得(含山柰素 0.0103 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品, 研成细粉, 取约 1 g , 精密称定, 加入甲醇 50 mL , 加热回流 1 h , 滤过, 残渣用甲醇少量洗涤 2 次, 洗涤液并入滤液中。滤液减压浓缩至干, 用水 25 mL 分次定量转移至分液漏斗中, 用乙醚 40 mL 萃取 3 次($15, 15, 10 \text{ mL}$), 萃取液合并, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性范围的考察: 精密量取山柰素对照品贮备溶液(0.103 mg/mL) $0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 \text{ mL}$ 分别置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成系列浓度的溶液。分别量取 $10 \mu\text{L}$ 进样, 以山柰素的量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为 $Y = 224\,077.1X - 2\,742.2$, $r = 0.9999$ 。结果表明山柰素在 $0.0103 \sim 0.5150 \mu\text{g}$ 时与峰面积值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密量取山柰素对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 重复进样 6 次, 测定山柰素峰面积值, 结果其 $RSD = 0.77\%$ ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液(批号 20000628) 分别于 $0, 2, 4, 6, 8 \text{ h}$ 进样 $10 \mu\text{L}$, 测得样品中山柰素峰面积值的 $RSD = 1.33\%$ ($n = 6$)。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批样品(批号: 20000628) 5 份, 按上述方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算山柰素含量, 结果其 $RSD = 1.57\%$ ($n = 5$)。

2.8 回收率试验: 取已知含量的样品(批号: 20000628, 含量为 0.1097 mg/g) 1 g , 分别精密加入山柰素对照品溶液(0.236 mg/mL) 0.5 mL , 照上述色谱条件和供试品制备方法操作, 结果平均回

收率为 99.89% , $RSD = 1.83\%$ ($n = 6$)。

2.9 样品测定: 照已建立的含量测定方法, 对金刚藤颗粒中的山柰素进行了含量测定, 结果见表 1。

表 1 金刚藤颗粒中山柰素含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Kaempferol in Jingangteng Granula ($n = 3$)

批号	山柰素含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	批号	山柰素含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
990909	0.117 4	990916	0.100 4
990921	0.104 8	990923	0.102 0
990907	0.096 9	991005	0.094 8
991007	0.094 8		

3 讨论

3.1 本品成分复杂, 用甲醇作溶剂提取后, 在主峰前有大量的极性组份, 为了减小色谱柱的负荷以及其他组份对山柰素的干扰, 故用乙醚对样品进行了萃取, 并且对萃取的次数进行了考察, 测定结果表明: 用乙醚萃取 3 次即可提取完全, 第 4 次萃取液未检出山柰素。

3.2 对供试品溶液的制备所用溶剂和提取方法进行了考察比较, 如用甲醇、乙醇、醋酸乙酯、乙醚作为提取溶媒进行了考察; 同时对超声提取、索氏提取、加热回流方法及提取时间进行了比较, 制备了各种供试品溶液。经比较, 选用甲醇加热回流、乙醚萃取制备供试品溶液为最佳方法。

3.3 比较了不同系统和比例的流动相, 如甲醇-水-磷酸、乙腈-水-磷酸、乙腈-水-磷酸-三乙胺系统, 结果以乙腈-水-磷酸-三乙胺($29:71:0.3:0.05$)为流动相, 使山柰素与其相邻的组份峰可获得良好分离, 理论塔板数以山柰素计约为 $7\,000$, 在上述条件下, 山柰素与其相邻峰分离度符合要求。

3.4 在进行波长选择时, 采用甲醇和流动相分别配制山柰素对照品溶液进行紫外吸收扫描, 表明在 365 nm 处均有最大吸收, 故选择检测波长为 365 nm 。

HPLC 法测定水辣蓼中芦丁的含量

罗 杰¹, 陆 霞^{2*}

(1. 广州白云山中药厂, 广东 广州 510015; 2. 广东省药品检验所, 广东 广州 510015)

辣蓼为蓼科植物水辣蓼 *Polygonum hydropiper* L. 或旱辣蓼 *P. flaccidum* Meisn. 的干燥全草。具有除湿化滞等功效, 用于痢疾、肠炎、食滞等。辣蓼含

黄酮类物质, 其中芦丁具有抗炎作用^[1]、止血作用^[2]。本实验采用 HPLC 法对水辣蓼中芦丁进行测定, 可以更好地掌握和控制药材的质量。

* 收稿日期: 2003-05-27

作者简介: 罗 杰(1966—), 男, 广东人, 主管中药师, 1992 年毕业于广州中医药大学, 主要从事中药质量标准研究。
Tel: (020) 88129119

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, AND 十万分之一电子天平。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 080-9303), 水棘藦 *P. hydropiper* L. 购于广州市药材公司, 经广州市药品检验所刘柏英鉴定; 甲醇(色谱纯), 硅胶 G(青岛海洋化工厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 依利特 Hypersil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸(35:65); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 360 nm。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称芦丁对照品适量, 置量瓶中, 加甲醇制成 25 μg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取药材粉末 0.5 g, 精密称定, 加入乙醚 50 mL, 超声 15 min, 滤过, 弃去乙醚液, 药渣挥干乙醚。药渣精密加甲醇 50 mL, 称定质量, 水浴回流 1 h, 补足减失的甲醇质量, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备: 取芦丁对照品溶液(16.704 μg/mL), 分别进样 5, 10, 15, 20 μL, 按拟定色谱条件测定其峰面积。以芦丁进样量为纵坐标, 峰面积为横坐标, 绘制标准曲线。结果表明, 芦丁在 0.083 5~0.334 1 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系。回归方程为 $Y = 0.0007X + 0.0029$, $r = 0.9997$ 。

2.5 精密度试验: 取芦丁对照品溶液(16.704 μg/mL) 10 μL 各进样 5 次, 测定, 结果芦丁峰面积的 RSD = 0.6%。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液, 每隔 2 h 测定芦丁峰面积 1 次, 连续测 4 次, 结果其 RSD = 0.82%。表明供试品溶液在 6 h 内测定是稳定的。

2.7 重现性试验: 取样品一式 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果芦丁峰面积 RSD = 2.1%。

2.8 回收率试验: 取已测定芦丁含量(0.736 mg/g) 的样品约 0.25 g, 精密称定, 再精密加入 0.173 mg 芦丁对照品, 按上述供试品溶液的制备方法操作, 结果平均回收率为 98%, RSD 为 3.2%。

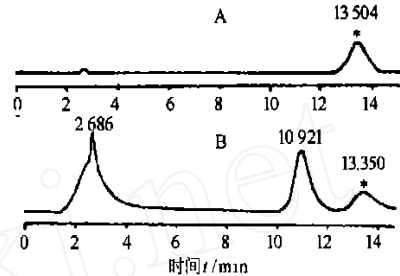
2.9 样品的含量测定: 取样品制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μL, 进样,

测定, 结果见表 1。色谱图见图 1。

表 1 水棘藦中的芦丁测定结果 (n = 2)

Table 1 Content of rutin in *P. hydropiper* (n = 2)

批号	芦丁含量/(mg · g ⁻¹)
1	0.613
2	0.736
3	0.872
4	0.922



* - 芦丁

* - rutin

图 1 芦丁对照品(A)和水棘藦(B)的 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of rutin reference substance (A) and *P. hydropiper* (B)

3 讨论

水棘藦中芦丁含量测定的流动相还考察了甲醇-水(35:65) (I)^[3]、甲醇-水-乙腈-冰醋酸(30:57.5:10:2.5) (II)^[4]。采用流动相 (I), 芦丁峰有少许拖尾。采用流动相 (II), 芦丁峰分离效果较好, 但要采用 4 种溶剂, 成本也较高, 而采用甲醇-0.4% 磷酸溶液(35:65), 芦丁峰分离效果好, 且成本低、简便。

References

- [1] Huang T K. *Handbook of Composition and Pharmacological Action of Commonly-used Traditional Chinese Medicine* (常用中药成分与药理手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmacological Science and Technology Publishing House, 1994.
- [2] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1975.
- [3] Deng F L, Chen B M, Chen G H, et al. Determination of rutin in *Flos Sophorae* by HPLC [J]. *Bull Hunan Med Univ* (湖南医科大学学报), 2000, 25(16): 597.
- [4] Zhao D F. Determination of rutin in Shanhecha Capsule by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24 (9): 724.

青藏高原红景天提取物

兰州汇元生物技术研究所

联系人: 李义富 电话: (0931)7357097 手机: 13109366988