

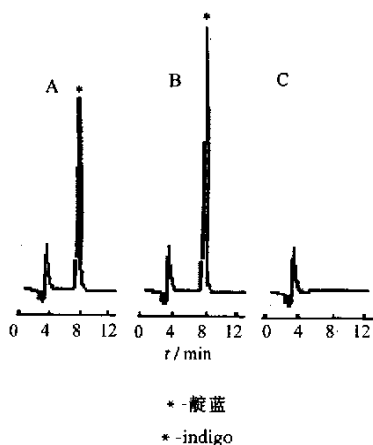


图 3 靛蓝对照品(A)、八味锡类散(B)、阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC Chromatograms of indigo reference substances (A), Bawei Xilei Powder (B), and negative sample (C)

定靛蓝的色谱峰面积。结果表明,供试品溶液制备后 6 h 内测定色谱峰面积无明显变化,RSD 为 1.52%。

3.9 回收率试验:取八味锡类散(批号 050111)样品 6 份,每份约 0.1 g,精密称定,加入 0.32、0.38、0.48 mg 靛蓝对照品,制备供试品溶液,在上述色谱条件下进样,计算回收率,结果平均回收率为 100.47%,RSD 为 0.73% ( $n=9$ )。

3.10 样品的测定:取 3 个不同批号的八味锡类散粉末 0.1 g (3 份),精密称定,制备供试品溶液,在上述色谱条件下进样,测定,结果见表 1。

表 1 八味锡类散中靛蓝的测定结果 ( $n=3$ )

Table 1 Indigo in Bawei Xilei Powder ( $n=3$ )

| 批号     | 靛蓝/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) | RSD/% |
|--------|-------------------------------------------|-------|
| 050111 | 84.29                                     | 1.44  |
| 050211 | 79.12                                     | 0.76  |
| 050425 | 84.16                                     | 1.60  |

## 4 讨论

4.1 流动相的选择:对多种流动相(甲醇、0.2%醋酸、0.1%醋酸、0.1%三乙胺等)种类及不同的配比[甲醇-0.2%醋酸(90:10、80:20、70:30、60:40)、甲醇-0.1%醋酸(80:20、70:30、69:31、68:32)]进行了试验,最后选定甲醇-0.2%醋酸(68:32),样品中靛蓝与其他组分均可达到基线分离,空白对照亦无干扰。

4.2 供试品提取方法的选择:进行了超声提取、回流提取、索氏提取 3 种提取方法比较,结果在不同提取方法制备样品中靛蓝的质量分数基本不变,但超声提取杂质峰干扰小,提取时间短,故采用超声提取的方法。

4.3 供试品提取溶剂的选择:采用超声 30 min 处理的方法,比较了氯仿、甲醇、70%甲醇、醋酸乙酯、乙醚对靛蓝提取效果的影响。结果表明氯仿提取率最高且 HPLC 色谱峰对称性符合要求,因此选氯仿作为提取溶剂。

4.4 供试品提取时间的选择:采用氯仿超声提取,分别测定了提取 10、20、30、40、50、60 min 样品中靛蓝的质量分数,结果靛蓝的质量分数分别为 54.25、59.80、72.85、73.64、72.90、71.80  $\mu\text{g/g}$ ,表明在 30~60 min 样品中靛蓝的质量分数基本不变,故采用超声提取 30 min 的方法,以方便操作,节省时间。

4.5 结果表明,采用薄层色谱法对方中的冰片、牛黄进行定性鉴别,采用高效液相色谱法对方中青黛的靛蓝进行测定,操作简单,结果准确,重复性好,能有效地控制产品质量。

## Reference:

- [1] Nie S P, Wang Y X, Xie M Y. Gas chromatography analysis for *Boreolum Syntheticum* in Bawei Xilei Powder [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26 (1): 80-82.

## HPLC 法测定广东紫珠及其制剂宫复康胶囊中木犀草素

刘成红, 曹 红, 邢俊波

(总后卫生部药品仪器检验所 中药室, 北京 100071)

广东紫珠为马鞭草科紫珠属植物广东紫珠 *Callicarpa kwangtungensis* Chun 的干燥地上部分,

具清热解毒、祛风活血、散瘀消肿、止血镇痛等功效, 临床用于治疗月经不调、功能性子宫出血、风湿性关

收稿日期: 2005-06-16

作者简介: 刘成红(1972—), 女, 山东烟台福山人, 理学硕士, 主管药师, 1996 年毕业于长春中医学院, 主要从事中药质量控制的研究。  
Tel: (010) 66949081 E-mail: chenghongliu@mail.china.com

节炎、跌打损伤等症。宫复康胶囊由广东紫珠、川楝子、蒲公英、益母草等中药经提取加工制成,主要用于宫颈炎、宫颈糜烂。广东紫珠主要化学成分为黄酮、二萜类化合物及鞣质等,其中黄酮类化合物 3', 4', 5-三羟基黄酮-7-O-葡萄糖苷、3', 5, 7-三羟基黄酮-4'-O-葡萄糖苷均为木犀草素 3', 4', 5, 7-四羟基黄酮的葡萄糖苷。木犀草素及其苷类具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等药理作用<sup>[1]</sup>, 因此本实验选择木犀草素为指标成分, 以控制药材及其复方制剂的质量。

## 1 仪器与试剂

惠普 HP—1050 四元梯度泵, HP—1050 DAD 检测器, HP—1100 自动进样器, HP 化学工作站(美国惠普)。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。广东紫珠购于安徽亳州, 由本室刘云副主任药师鉴定为马鞭草科植物广东紫珠 *C. kwangtungensis* Chun 的干燥地上部分, 宫复康胶囊由本室配制。木犀草素对照品(批号 111520-200201, 中国药品生物制品检定所提供)。

## 2 方法与结果

2.1 色谱分析条件: Shim-pack VP-ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 甲醇-0.3%磷酸水(45:55)为流动相; 检测波长为 350 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 40℃。理论板数按木犀草素峰计算应不低于 4 000。

### 2.2 处理方法的选择

2.2.1 酸水解条件的选择: 曾考察药材的醋酸乙酯、乙醇提取液, 液相色谱均未见游离木犀草素峰, 而水煮液经水解后, 高效液相色谱可见游离木犀草素峰, 说明广东紫珠中的木犀草素以不同的苷类形式存在, 故需水解才能测定。

2.2.2 酸的选择: 取药材的同一份 50%乙醇提取液, 均分 20 份(每份相当于广东紫珠药材 0.5 g), 水浴挥干乙醇, 加水调整至 30 mL, 分别加入不同的酸, 沸水浴水解 3 h, 测定, 结果见表 1。1% HCl 水解效果较好, 故选用 1% HCl 作为水解用酸。

2.2.3 水解时间的考察: 上述提取液取 5 份, 水浴挥干乙醇, 加水调整至 30 mL, 分别加入 1%盐酸 0.3 mL, 沸水浴水解不同的时间, 测定, 结果见表 2。水解 4 h 后, 木犀草素的质量分数不再增加, 故水解时间确定为 4 h。

### 2.3 溶液的制备

2.3.1 药材供试品溶液的制备: 取药材, 粉碎过 60 目筛, 精密称取药材粉末 0.5 g, 以 50%乙醇 50 mL

表 1 不同的酸水解结果

Table 1 Results of hydrolyzing with various acids

| 水解用酸                                | 木犀草素/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------------|----------------------------|
| 0.5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0.276 3                    |
| 1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   | 0.279 9                    |
| 2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   | 0.234 0                    |
| 0.5% HCl                            | 0.334 8                    |
| 1% HCl                              | 0.370 5                    |
| 2% HCl                              | 0.277 2                    |
| 3% HCl                              | 0.283 5                    |

表 2 不同时间水解结果

Table 2 Results of hydrolyzing in different times

| 水解时间/h | 木犀草素/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|--------|----------------------------|
| 1      | 0.222 0                    |
| 2      | 0.346 8                    |
| 3      | 0.370 5                    |
| 4      | 0.381 3                    |
| 5      | 0.369 0                    |

加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇并浓缩至 30 mL, 加入 0.3 mL 盐酸, 沸水浴水解 4 h, 取出放冷至室温, 用醋酸乙酯振荡提取 4 次, 每次 15 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 制剂供试品溶液的制备: 胶囊 10 粒, 取内容物研磨均匀, 精密称取约 0.25 g, 加入石油醚 10 mL、水 30 mL 溶解, 弃去石油醚层, 水层加入 0.3 mL 盐酸, 沸水浴水解 4 h, 取出放冷至室温, 用醋酸乙酯振荡提取 4 次, 每次 15 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.3 对照品溶液的制备: 精密称取木犀草素对照品适量, 加甲醇制成 15 μg/mL 的溶液。

2.4 空白对照试验: 按处方中药味的比例, 配制不含广东紫珠的群药, 按其工艺制成空白的制剂, 再按供试品溶液制备方法制备, 即得。按以上色谱条件得到对照品、药材、制剂、空白对照的 HPLC 色谱图, 见图 1。

2.5 线性关系考察: 精密吸取木犀草素对照品溶液(30 μg/mL) 1、2.5、5、10、15 μL, 依次注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 木犀草素进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得方程  $Y = 3\,806.661\,67 X - 2\,081\,403\,5$ ,  $r = 0.999\,96$ 。结果表明木犀草素进样量在 0.03~0.45 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验: 精密吸取木犀草素对照品溶液(15.7 μg/mL) 10 μL, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 计算得 RSD 为 1.0%。

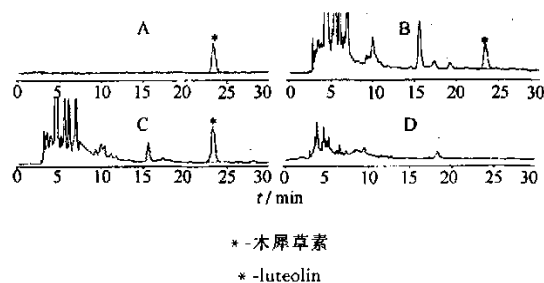


图 1 木犀草素对照品(A)、宫复康胶囊(B)、广东紫珠(C)和缺广东紫珠的阴性对照(D)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of luteolin reference substance (A), Gongfukang Capsules (B), *C. kwangtungensis* (C), and negative sample (D)

2.7 稳定性试验: 取待测制剂供试品溶液, 于 0、3、6、9、12 h 进行测定峰面积积分值, 计算得其 RSD 为 2.3%。测定结果表明, 供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.8 重现性试验: 取 040102 批制剂, 提取方法等同, 按前述高效液相色谱条件重复测定样品 5 次, 木犀草素的平均质量分数为 0.279 7 mg/g, RSD 为 1.1% ( $n=5$ ), 结果表明此法重复性良好。

2.9 加样回收率试验: 精密称取已知木犀草素 0.279 7 mg/g 的 040102 批制剂 0.125 g, 分别加入木犀草素对照品 28、35、42  $\mu$ g, 制备供试品溶液, 测定其质量分数, 计算回收率, 结果平均回收率为 96.85%, RSD 为 1.6% ( $n=6$ )。

2.10 测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪, 测定, 按外标法计算, 结果见表 3。

### 3 讨论

表 3 广东紫珠及其制剂宫复康胶囊中木犀草素的测定结果

Table 3 Determination of luteolin in *C. kwangtungensis* and its preparation Gongfukang Capsules

| 样 品   | 批 号    | 木犀草素/(mg · g <sup>-1</sup> ) |
|-------|--------|------------------------------|
| 广东紫珠  | 药材 1   | 0.388                        |
|       | 药材 2   | 0.422                        |
| 宫复康胶囊 | 040102 | 0.280                        |
|       | 040108 | 0.271                        |
|       | 040115 | 0.285                        |

检测波长的选择: 根据木犀草素紫外吸收光谱图及参考文献报道<sup>[2]</sup>, 选用 350 nm 为检测波长。

流动相的选择: 曾选用甲醇-水<sup>[3]</sup>、甲醇-磷酸盐缓冲液、乙腈-磷酸盐缓冲液、甲醇-磷酸水系统, 结果本法最终选定的甲醇-磷酸盐溶液可使木犀草素达到基线分离, 且理论板数可达 10 000 以上。

在我国分布的紫珠属植物可供药用的有 30 种, 目前的质控标准主要为以紫外分光光度法测定按芦丁计的总黄酮, 本法的制定, 为广东紫珠提供了可靠的质控方法, 为其他紫珠属药用植物的质量控制提供了极具价值的参考。

### References:

- [1] Chan E C. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 35 (2): 326-329.
- [2] Hu B B, Jiang H D, Yang J, et al. Determination of luteolin and luteolin-7- $\beta$ -D-glucoside in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. from different collection time [J]. *J Zhejiang Univ: Med Sci* (浙江大学学报: 医学版), 2004, 33 (1): 29-32.
- [3] Liu J Q, Wu D L, Wang L, et al. Determination of luteolin-7- $\beta$ -D-glucoside in *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (1): 52-53.

## HPLC 法测定寐复康胶囊中五味子甲素

刘晓红

(河南省洛阳正骨医院 正骨研究所, 河南 洛阳 471002)

寐复康胶囊为医院制剂, 由五味子、酸枣仁、甘草等 15 味药组成, 其有补益心脾、宁心安神的功效, 用于心脾两虚证, 症见平素失眠多梦, 心悸气短, 头晕健忘。为控制其质量, 根据本品的功能主治, 本实验采用反相 HPLC 法测定了制剂中有效成分五味子甲素。

### 1 材料与仪器

寐复康胶囊及其空白样品(洛阳市第二中医院制剂室提供); 五味子甲素对照品(批号 110764-200405, 中国药品生物制品检定所), 色谱纯甲醇, 水为双蒸水, 其余均为分析纯试剂。

收稿日期: 2005-06-24

作者简介: 刘晓红(1964—), 女, 北京人, 副主任药师, 1988 年毕业于河南中医学院, 主要从事临床药学及制剂研究, 发表论文 25 篇, 专著 2 部。Tel: (0379) 63546693