

此保留时间无干扰(图 1)。

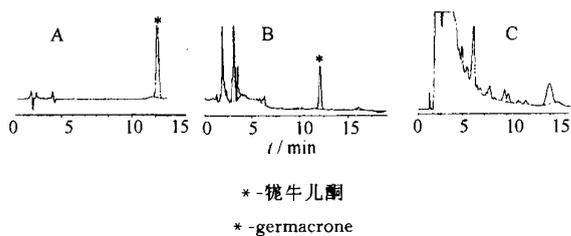


图 1 牻牛儿酮对照品(A)、清肌瘤胶囊(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of germacrone reference substance (A), Qingjiliu Capsules (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察:精密吸取上述牻牛儿酮对照品贮备液(质量浓度为 760 $\mu\text{g}/\text{mL}$),用乙醇稀释含牻牛儿酮 76 $\mu\text{g}/\text{mL}$,精密吸取稀释液一定量,用流动相稀释得到 1.9、3.8、7.6、15.2、22.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液。按上述色谱条件分别进样,测定峰面积。以峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 529.44 + 32\ 393.50 X$, $r = 0.999\ 9$,表明牻牛儿酮进样量在 1.9~22.8 μg 与峰面积有良好线性关系。

2.7 精密度试验:取同一供试品溶液 20 μL ,按上述色谱条件进行测定,重复进样 5 次,测定牻牛儿酮峰面积,结果 RSD 为 0.18%。

2.8 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液 20 μL ,按上述色谱条件测定,每隔 2 h 进样一次,测定峰面积,连续测定 6 次,结果 RSD 为 0.81% ($n = 6$),表明样品在 10 h 内稳定。

2.9 重现性试验:取同一批样品内容物,精密称取 5 份,分别按供试品溶液制备方法平行制备,各精密吸取 20 μL ,按上述色谱条件测定,该样品中牻牛儿

酮平均质量分数为 70 $\mu\text{g}/\text{g}$,RSD 为 2.26% ($n = 5$)。

2.10 加样回收率试验:精密称取含牻牛儿酮 70.02 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的样品内容物 6 份,各约 1.5 g,分别精密加入 760 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的牻牛儿酮对照品贮备液约 0.14 mL,按供试品溶液制备方法制备,并按上述色谱条件测定,计算回收率。结果平均回收率为 96.9%,RSD 为 1.09%。

2.11 样品测定:精密称取样品内容物按供试品溶液制备方法制备,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL ,按上述色谱条件测定峰面积,计算样品中牻牛儿酮的质量分数,结果见表 1。

表 1 清肌瘤胶囊中牻牛儿酮的测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination of germacrone in Qingjiliu Capsule ($n = 3$)

编号	牻牛儿酮/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	RSD/%
050908	70.1	2.02
050816	70.3	1.21
051114	69.7	1.42

3 讨论

对中药制剂中莪术的有效成分牻牛儿酮的测定方法鲜有报道,本法是参考了《中国药典》2005 年版一部莪术油项下的方法经改进后建立的。

比较不同流动相系统,如采用乙腈-水(35 : 65),但牻牛儿酮对照品保留时间过长且峰形不理想;采用文献报道的甲醇-水(80 : 20)^[1],由于样品成分复杂,各组分分离效果均不佳。结果表明,以乙腈-水(40 : 60)为流动相不仅保留时间缩短,且分离也最为理想。

Reference:

[1] You J, Yu Y W, Li Q P, et al. Determination of zedoary turmeric oil microsphere [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2005, 27 (1): 25-28.

HPLC 法测定黄金菊含片和胶囊中莪草苷

尹秀莉, 张贵君*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

黄金菊含片及胶囊系采用毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge 的干燥花为君药, 配伍另外两种清热解毒的中药制成的制剂, 临床上主要用于

治疗上呼吸道感染、咽炎、扁桃体炎等。金莲花具有很好的抗菌、抗病毒作用^[1~3], 其所含的黄酮类化合物莪草苷(orientin)为主要活性成分。本研究采用高

收稿日期: 2005-11-10

作者简介: 尹秀莉(1972—), 女, 黑龙江人, 硕士, 主管药师, 1995 年毕业于黑龙江中医学院, 工作于黑龙江海员总医院, 研究方向为中药鉴定方法学。E-mail: xiuliyin@163.com

* 通讯作者 张贵君 E-mail: guijunzhang@163.com

效液相色谱法测定黄金菊含片及其胶囊中的荜草苷,结果满意,为其制剂的质量控制提供了科学依据。

1 仪器与材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,四元泵 DE11401967 (UV 检测器),在线脱气机。

荜草苷对照品为自制,TLC 及 HPLC 检测均为单峰,经过 UV、IR、测试鉴定为荜草苷,经 DAD-HPLC 检测,纯度因子为 999.964,说明此荜草苷峰为纯峰。

黄金菊胶囊、黄金菊含片均为北京宏泰康达医药科技有限公司提供。乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Hypersil ODS2 C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%磷酸水溶液-乙腈(83:17);体积流量:1.0 mL/min;检测波长 345 nm;进样量:10 μL;柱温:室温。

2.2 线性关系考察:用 80%甲醇制成荜草苷对照品溶液(19.6 μg/mL)。分别精密吸取 4、6、8、10、12 μL,注入液相色谱仪,测定。以色谱峰面积值对荜草苷溶液的质量浓度进行回归,得回归方程为:Y=25.522 0 X+4.606 4, r=1.000。结果表明:荜草苷在 0.078 4~0.235 2 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.3 供试品溶液的处理方法选择

2.3.1 溶剂的考察:精密称取样品 180 mg,分别用水、50%甲醇、80%甲醇、甲醇定容至 25 mL,超声 5 min,滤过,测定,结果以荜草苷峰面积计 50%甲醇和 80%甲醇的溶出率无显著差异,而比水和甲醇的溶出率高,差异显著。故选用 80%甲醇为试验溶剂。

2.3.2 超声时间的考察:精密称取供试品 180 mg,于 25 mL 80%甲醇中,分别超声 5、10、20 min,滤过,测定,结果 5、10、20 min 的荜草苷峰面积平均值无显著性差异,故提取超声时间确定为 5 min。

2.4 供试品溶液及阴性对照溶液的制备:分取含片细粉约 180 mg、胶囊细粉约 90 mg,精密称定,分别加 80%甲醇 25 mL,密闭超声 5 min,滤过,滤液作为供试品溶液。同法制备缺金莲花阴性对照溶液。

2.5 精密度试验:取同一对照品溶液 10 μL,连续进样 5 次,测荜草苷峰面积,其 RSD 为 0.27%。

2.6 稳定性试验:精密吸取于室温下放置的同一份供试品溶液 10 μL,分别于 0、2、4、6、8 h 进样,测定。结果含片中荜草苷峰面积的 RSD 为 1.17%。胶囊中荜草苷峰面积的 RSD 为 0.95%。结果表明供试品溶液均在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批样品,5 份,制备供试品溶液,进样测定。结果含片中荜草苷峰面积的 RSD 为 0.80%;胶囊中荜草苷峰面积的 RSD 为 1.06%。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。分别精密称取样品适量(约相当于荜草苷 250 μg),共 5 份,分别精密加入 12 mL (19.6 μg/mL)荜草苷对照品溶液,作为供试品溶液,进样,测定。结果含片的平均回收率为 99.97%,RSD 为 0.82%;胶囊的平均回收率为 100.87%,RSD 为 1.47%。

2.9 样品的测定:分别吸取荜草苷对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,按上述荜草苷色谱条件分别进样测定。荜草苷的保留时间为 9.374 min,供试品溶液在该保留时间有特征吸收峰,阴性对照在此无吸收,测定结果见图 1,表 1。

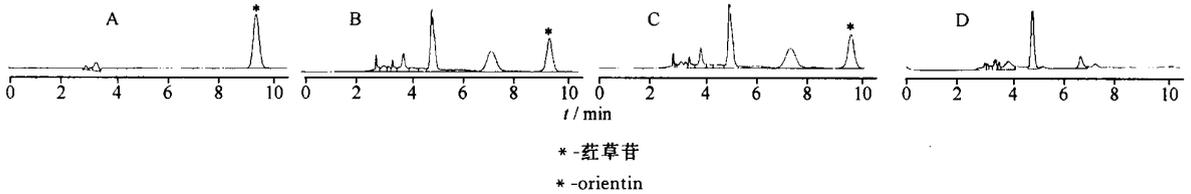


图 1 荜草苷对照品(A)、黄金菊含片(B),黄金菊胶囊(C)和金莲花阴性对照(D)

Fig. 1 HPLC Chromatograms of orientin reference substance (A), Huangjinju Buccal Tablets (B), Huangjinju Capsules (C), and negative sample (D)

表 1 黄金菊含片和胶囊中荜草苷的测定结果 (n=3)

Table 1 Orientin in Huangjinju Buccal Tablets and Capsules (n=3)

批号	荜草苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%	批号	荜草苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
含片 040101	2.7	2.11	胶囊 040101	5.3	2.30
040102	2.7	2.81	040102	5.4	3.09
040103	2.6	2.69	040103	5.3	2.51

3 讨论

笔者是根据制剂的 HPLC 图谱(图 2)制定这一质量标准的。从图 2 可以看出绿原酸峰、荜草苷峰和黄芩苷峰是面积较大的峰,其中荜草苷峰相邻在其之前的峰是一不纯的“馒头”峰,是金莲花中量比荜草苷略少的未知峰,本实验室对其单体的分离测定和药效研究尚在进行中,如果可能它将是进一步控制金莲花质量的另一指标。

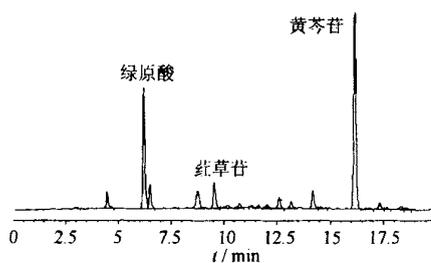


图 2 黄金菊含片的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatogram of Huangjinju Buccal Tablets

大孔吸附树脂分离纯化侧柏叶中槲皮苷的研究

杨庆胜, 张京健, 张龙海, 贾春华, 樊小勇

(河南仲景保健药业有限公司, 河南 郑州 450001)

侧柏叶是柏科植物侧柏 *Platyclus orientalis* (L.) Franco 的干燥嫩枝及叶, 具有凉血止血、生发乌发之功效, 用于吐血衄血、咯血、便血、崩漏下血、血热脱发、须发早白等症^[1]。所含主要成分为黄酮类化合物、鞣质和挥发油类等, 其中镇咳祛痰和止血主要有效成分为黄酮类化合物中的槲皮苷类^[2,3]。

大孔吸附树脂是一类有机高聚物吸附剂, 具有吸附快、解附快、吸附容量大、易于再生等特点, 已广泛应用于天然产物的分离和富集。侧柏叶中黄酮类成分结构比较复杂, 一般方法较难将它们分开, 目前侧柏叶总黄酮提取物常用的分析方法多为以芦丁为对照品采用紫外分光光度法测定总黄酮^[4], 因芸香苷(芦丁)与侧柏叶中槲皮苷的结构上有所不同, 在吸收波长上也有所差异, 不能正确地反映出侧柏叶总黄酮提取物的内在质量。本实验选用高效液相色谱法, 以槲皮苷为指标, 对用大孔树脂分离纯化侧柏叶总黄酮进行测定, 以确定大孔树脂分离纯化的工艺条件。实验表明, 该法准确、灵敏、快速简便, 所选指标槲皮苷能够准确地反映侧柏叶总黄酮提取物的内在质量, 所优选的工艺条件具有实际意义。

1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, HP1050/3D 化学工作站; 玻璃色谱柱(280 mm×20 mm); 吸附树脂均购自南开大学化工厂; 槲皮苷对

References:

- [1] Lin Q F, Feng S Q, Li Y L, et al. Study on the antibacterial and antiviral activity compositions of *Trollius chinensis* Bunge [J]. *J Zhejiang Univ: Sci* (浙江大学: 科学版), 2004, 31 (4): 412-415.
- [2] Wen Y H, Lin Y S, Huang H, et al. Study on the antiviral activity of the solution extracted from *Trollius chinensis* Bunge with water [J]. *Chin J Microbiol Immunol* (中华微生物学和免疫学杂志), 1999, 19 (1): 21.
- [3] Li Y L. Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79: 356.

照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 111538-200301); 色谱分析用甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水(自制), 侧柏叶药材购自河南省药材公司, 经鉴定符合《中国药典》2005 年版一部侧柏叶项下规定。

2 方法与结果

2.1 树脂的预处理: 各吸附树脂经筛选后, 用乙醇浸泡 12 h, 倾倒入上层乙醇, 然后加入吸附柱中, 待树脂装好后, 用乙醇 3 BV/h 通过树脂层, 至流出液加水不呈白色浑浊为止, 并用水以同样速度洗涤乙醇, 然后用 2 BV 2% HCl 溶液以 2.6 mL/min 通过树脂层, 并浸泡 4 h 后用水以同样速度洗至流出液 pH 值呈中性, 最后用 2 BV 2% NaOH 溶液以 2.6 mL/min 通过树脂层, 并浸泡 4 h 后, 用水以同样速度洗至流出液 pH 值呈中性, 滤取, 室温晾干, 即得。以 95% 乙醇湿法装柱, 继续用乙醇在柱上流动清洗至流出液乙醇-水(1:5)不呈白色为止, 然后用蒸馏水洗至无醇味, 备用。

2.2 上柱液的制备: 取侧柏叶药材粗粉, 用 10 倍 70% 乙醇提取 2 次, 每次 2 h, 药液滤过, 合并, 减压浓缩(每毫升药液相当于生药 1 g)。

2.3 槲皮苷的 HPLC 法测定^[1]

2.3.1 色谱条件与系统适应性试验: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以甲醇-0.01 mol/L 磷酸二

收稿日期: 2005-10-25

作者简介: 杨庆胜(1969—), 男, 郑州人, 主管中药师, 执业药师, 1993 年毕业于河南中医学院中药系, 一直主要从事中药的新产品开发, 发表科研论文 10 余篇。