

$Y = -14.29 + 9138.9X$, $r = 0.9999$ 。结果表明白花丹醌在 0.020 8~0.104 μg 峰面积与进样量具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 (0.010 4 mg/mL) 10 μL 注入液相色谱仪器,重复进样 5 次,测得峰面积, $\text{RSD} = 0.35\%$,表明精密度良好。

2.6 稳定性试验:样品溶液于配制完成时即避光放置,间隔 4 h 重复进样,共 6 次。测得峰面积积分值, $\text{RSD} = 0.12\%$,表明对照品溶液避光放置在 20 h 内保持稳定。

2.7 重现性试验:称取白花丹药材(根)样品 5 份,每份约 1 g,制备供试品溶液并进行测定,计算药材根中白花丹醌的量。结果 5 份平均质量分数 0.051 3%, $\text{RSD} = 0.33\%$,表明本法具有较好的重现性。

2.8 加样回收试验:精密称取已测定量的药材(根)样品约 1 g,分别加入白花丹醌对照品溶液 (0.010 4 mg/mL) 1、2、3 mL,按供试品溶液制备及测定,计算回收率。结果 6 份样品平均回收率 98.7%, $\text{RSD} = 1.9\%$ 。

2.9 样品测定:取不同采收期的白花丹根样品,按供试品溶液处理方法处理。分别进行白花丹醌的测定,结果如表 1。

表 1 样品测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of sample ($n=3$)

样品号	药材采收期/月	白花丹醌/%	样品号	药材采收期/月	白花丹醌/%
1	1	0.126 4	7	7	0.351 0
2	2	0.528 9	8	8	0.392 8
3	3	0.346 8	9	9	0.213 1
4	4	0.314 6	10	10	0.331 2
5	5	0.332 9	11	11	0.197 7
6	6	0.195 6	12	12	0.234 3

3 讨论

3.1 本实验对白花丹有效成分的提取条件、检测波长、色谱分离条件等方面进行了探索,实验结果表明本实验方法提取到的白花丹醌量较高,用 RP-HPLC 法作为白花丹药材中白花丹醌量的测定,方法准确度、重现性好,而且简便、快速、可靠,可作为白花丹药材的质量控制方法。

3.2 从本实验结果表明,白花丹药材不同采收期中白花丹醌的量 2 月最高,3~5 月、7、8、10 月均稳定在较高水平,6、11、12 月均较低,从 9 月到次年 1 月有下降的趋势;实验结果规律不是太明显,可能与采样为野生药材,很难确定其准确的生长年限有关。

3.3 考虑到该药材为多年生蔓生亚灌木状草本植物,在所采样品的产地除 1~2 月其植株的下部有落叶现象外,基本上四季生长良好,花期 9~10 月,因此笔者认为若以根入药,建议在花前期采收较好。

3.4 可考虑规范化种植后再用本方法对白花丹的最佳采收期进行进一步研究,并得出更为准确、可靠的结论。

References:

- [1] Song L R, Hong X, Ding X L. *Large Dictionary of Modern Chinese Medicine*. [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.
- [2] Zhao H, Chang H J. The treatment of 62 case of body ringworm and buttocks ringworm with *Plumbago zeylanica* [J]. *J Extern Ther Tradit Chin Med* (中医外治杂志), 2003 (3): 27.
- [3] Su W R. Observation of effect on the treatment of 50 case of pruritus of skin with *Plumbago zeylanica* [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm* (中国民族医药杂志), 1996, 19: 27.
- [4] Lin J, Zhong E X. The treatment of 30 case of bone joint diseases with compound and powder [J]. *Railway Med J* (铁道医学), 2001, 29(5): 344.
- [5] Information Center of Chinese Herbal Medicine, State Pharmaceutical Administration of China. *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [6] Liu Y, Deng F, Liu C, et al. Determination of plumbagin in different parts of *Plumbago zeylanica* by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31(20): 1684-1686.

高效液相色谱法测定蜜甘草中槲皮素

吴冬梅

(河南省中医院,河南 郑州 450002)

蜜甘草为大戟科叶下珠属蜜甘草 *Phyllanthus matsumurae* Hayata 的干燥全草,具有清肝、明目、健胃、止痢、渗湿的功效^[1],槲皮素是蜜甘草中黄酮类化合物的主要成分之一^[2],具有抗自由基、抗氧

化、抗菌、抗癌防癌^[3~5]、抗病毒等^[6,7]多种药理作用和生物活性^[8]。蜜甘草中槲皮素的测定方法还没有报道,笔者用 HPLC 法测定槲皮素的量,优选出比较好的提取方法和分离条件,以控制蜜甘草中槲皮

素的量,方法简单、快速、准确,具有实用性。

1 材料与仪器

日本岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,SPD—20A 型紫外检测器,CBM—102 型色谱工作站,超声波清洗器(HS6150D 型,天津市恒奥科技发展有限公司生产),电子天平(BS224S,北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

槲皮素对照品:中国药品生物制品检定所提供(100081-200406)。

蜜柑草药材经河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为蜜柑草 *Phyllanthus matsumurae* Hayata。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱岛津 ODS 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(50:50);体积流量 1 mL/min;检测波长为 360 nm;柱温:40 ℃。在上述条件下蜜柑草中槲皮素与其他干扰峰分离良好,理论板数以槲皮素峰计算不低于 2 500。色谱图见图 1。

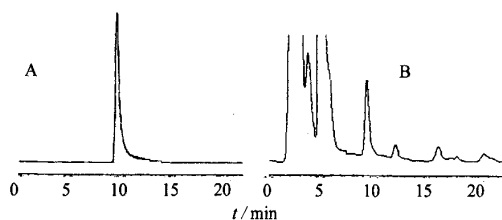


图 1 槲皮素对照品(A)、蜜柑草(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of quercetin reference substance (A) and *P. matsumurae* (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称定槲皮素对照品 2.0 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成含槲皮素 0.2 mg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取样 1 g 精密称定,置索氏提取器中,用甲醇-25%盐酸溶液(4:1) 20 mL 提取至无色,提取液浓缩至 5 mL,移到 10 mL 量瓶中,并加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线的绘制:精密量取对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 μL,进样,测定槲皮素的吸收峰面积,以进样量为横坐标,吸收峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为: $Y = 601\,405.772X - 133\,307.35$, $r = 0.999\,9$,槲皮素在 0.5~2.5 μg 线性关系良好。

2.5 稳定性试验:吸取对照品溶液 10 μL,每隔 2 h 进样测定 1 次,连续测定 10 h,槲皮素色谱峰面积的 RSD=1.35%。表明槲皮素在 10 h 内稳定。

2.6 精密度试验:精密吸取对照品溶液 10 μL,连

续进样 5 次,按上述条件进行测定,槲皮素相对保留时间稳定,峰面积积分值的 RSD=0.90%,表明精密密度良好。

2.7 重现性试验:取同一批样品,平行制备 5 份,按上述条件进行测定,槲皮素的平均质量分数为 0.013 3%,RSD=1.69%。

2.8 回收率试验:取已测定量的蜜柑草粉末 1 g,精密称定,分别加入 0.10 mg/mL 槲皮素对照品溶液 1.0、2.0、3.0 mL,按供试品溶液制备方法处理,得到 5 份加样回收供试液。精密吸取各加样回收供试液 10 μL,按上述色谱条件测定,结果槲皮素的平均回收率为 97.9%,RSD=1.10%。

2.9 样品测定结果:精密称取 5 批样品,每批 3 份,制备供试品溶液。精密吸取供试液 10 μL,按上述色谱条件测定,结果见表 1。

表 1 蜜柑草中槲皮素测定结果(n=3)

Table 1 Determination of quercetin in *P. matsumurae* (n=3)

样品号	槲皮素/%	样品号	槲皮素/%
1	0.014 6	4	0.013 9
2	0.012 3	5	0.016 4
3	0.016 7		

3 讨论

3.1 提取条件的选择:曾采用甲醇超声提取,甲醇定容制备供试品,结果槲皮素的提取率较低。用甲醇-25% 盐酸溶液(4:1)混合液加热回流提取效率较高,且易于分离。

3.2 柱温的选择:柱温对样品出峰时间和分离效果有着明显的影响,以 25、30、40 ℃ 的柱温进行筛选,结果以 40 ℃ 条件下分离效果好,而且出峰时间适宜。

3.3 流动相比比例的选择:以甲醇-0.4% 磷酸溶液(50:50)为流动相,曾对其比例进行调整,随着甲醇比例的增加槲皮素的拖尾稍有改善,但出峰时间提前,不利于槲皮素与杂质峰的分离,所以选择了 50:50 的比例。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Chen Y W, Ren L J. Studies on the anticancer constituents of *Matsumura Leafflower* (*Phyllanthus matsumurae*) I. Isolation and identification of flavonoid compounds [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(1): 5-7.
- [3] Hu J F. Inhibitory effects of *Phyllanthus emblica* juice on formation of *N*-nitrosomorpholine *in vitro* and *N*-nitrosoproline in rat and human [J]. *Chin J Prev Med* (中华预防医学杂志), 1990 (3): 132-135.
- [4] Syam asunder K V, Singh B, Thakur R S, et al. Antihepa-

totoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs [J]. *Ethnopharmacology*, 1985, 14(1): 41.

- [5] Wang C J, Yuan D P, Chen W, et al. Effects of *Phyllanthus urinaria* L. on human hepatoma cells [J]. *Lishizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国药研究), 1997, 8(6): 499.
- [6] Thyagarajan S P, Thiruneelakan K, Subramanian S, et al. In vitro inactivation of HbsAg by *Eclipsaalba Hasskand Phyllanthus niruri* Linn. [J]. *Ind Med Res*, 1982, 76

(Suppl): 124.

- [7] Xu D W, Ma H L, Ren Z Y, et al. Effects of *Phyllanthus Amarus* on hepatitis B virus [J]. *Tianjin Med J* (天津医药), 1994 (12): 717.
- [8] Chen X H, Hu Y M, Liao Y Q. The protective effect of Chongqing *Phyllanthus urinaria* L. on CCL₄ damaged hepatocyte of rats [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1994, 10(4): 17-18.

HPLC 法测定白术中的白术内酯 I、II、III

刘伟祥, 黎琼红*, 谢 晨, 段 启

(广东康美药业股份有限公司, 广东 普宁 515300)

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 干燥根, 主产于浙江、安徽、湖北、湖南等省。其性味甘、苦, 温, 具有健脾益气, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效^[1]。主要含有挥发油成分和内酯类成分。其中内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用^[2,3], 该类成分还具有调节胃肠道功能和促进营养物质吸收的功能, 尤以白术内酯 I 作用明显^[4]。为有效控制白术质量, 本实验采用 HPLC 法建立内酯类成分的定量分析方法。该方法可操作性强, 重现性好, 为更好地控制白术药材质量提供了科学依据。

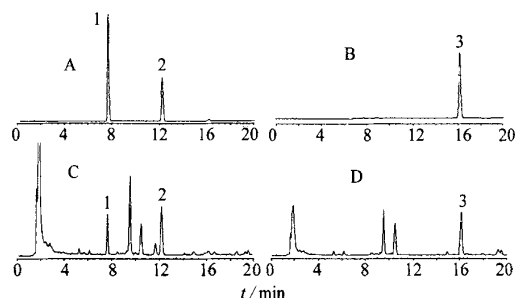
1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, 1100 色谱工作站。白术内酯 I、II、III 对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号分别是: 1396-060123、1397-060123、1398-060123。乙腈和甲醇均为色谱纯, 水为纯化水。药材购于不同产地, 经江西中医学院鉴定教研室鉴定为正品白术。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Dikma Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相 A, 水为流动相 B, 梯度洗脱程序为 (A): 0~16 min: 60%~76%; 16~18 min: 76%~100%; 18~30 min: 100%。体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 25℃, 白术内酯 I、III 检测波长为 220 nm, 白术内酯 II 检测波长为 276 nm, 进样量 10 μL。理论塔板数以白术内酯 I 计算应不低于 5 000。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取白术内酯 I、II、III 对照品 2.85、1.94、8.03 mg, 置于 25 mL 量瓶



1-白术内酯 III 2-白术内酯 I 3-白术内酯 II
1-atractylenolide III 2-atractylenolide I 3-atractylenolide II

图1 白术内酯 I、III (A, 220 nm)、白术内酯 II (B, 276 nm) 和样品 (C、D) HPLC 图谱

Fig.1 HPLC Chromatograms of atractylenolides I, III at 220 nm (A), II at 276 nm (B), samples at 220 nm (C), and 276 nm (D)

中, 用甲醇溶解定容至刻度, 制成含有白术内酯 I、II、III 分别为 0.114、0.078、0.321 mg/mL 的混标储备液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 称取白术药材粉末 (过 3 号筛) 约 1 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入甲醇 40 mL, 超声 30 min, 滤过, 滤液浓缩至小体积, 以甲醇转移并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 得 100 mg/mL 的供试品溶液。

2.4 线性关系考察: 分别精密吸取白术内酯 I、II、III 对照品储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL 加甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀。在上述色谱条件下进行分析, 分别以色谱峰面积 (Y) 对质量浓度 (X) 绘制标准曲线。结果表明: 白术内酯 I、II、

收稿日期: 2006-11-10

作者简介: 刘伟祥, 男, 副主任药师, 主要从事药物新剂型研究。

* 通讯作者 黎琼红 (1979—), 女, 硕士研究生。Tel: (0663) 2920370 E-mail: kj6868kj@163.com