

表 5 正交试验的补充试验
Table 5 Supplemental results of orthogonal test

提取次数	乙醇体积分数 /%	乙醇用量(液固比) /倍	提取时间/h	九节龙皂苷 I 提取率/%	药材中九节龙皂 苷 I 相对提取率/%	干浸膏得率 /%
1	75	800	4	0.86	45.00	12.90
2	75	600	3	0.27	14.24	4.20
3	75	600	3	0.05	2.85	1.65
4	75	600	3	0.01	0.57	0.82

0.06%；从干浸膏得率来看，前两次的干浸膏得率以占总量的 87%。因此考虑到生产上的可行性，正交试验的最优组合为 75%乙醇，第 1 次 8 倍量提取 4 h，第 2 次 6 倍量提取 3 h。

2.7 工艺验证试验：按照工艺优化条件制备 3 批样品，结果九节龙皂苷 I 提取率为 1.15% (RSD 为 1.41%)，干浸膏得率为 17.24% (RSD 为 2.66%)，说明该工艺条件下，九节龙皂苷 I 提取率和干浸膏得率均较高，从经济角度考虑在实际生产上比较节省成本，且生产效率较高。

3 讨论

对于九节龙皂苷 I 测定方面，通常用比色皿法，由于九节龙皂苷 I 的结构特殊，没有生色基，需加入显色剂方可进行，一般加入 6%香草醛-冰醋酸 0.2 mL，高氯酸 0.8 mL 作为显色剂；或使用 HPLC-UV 法利用末端吸收，检测波长为 205 nm。本实验对九节龙皂苷 I 的测定采用高效液相色谱法，利用蒸发光散射检测器进行测定。该方法结果准确，弥补了九节龙皂苷 I 因缺少生色基无共轭结构对检测带来的不便。

考虑到九节龙皂苷有效成分包含有脂溶性成

分，故选择适当体积分数的乙醇作为溶剂，因其主要成分为九节龙皂苷 I，故确定九节龙皂苷 I 为本工艺研究的指标成分。

实验中比较了多种色谱柱，不同流动相体系，最终选择了甲醇-水作为流动相，结果分离效果良好，继而进一步试验选择了不同流动相配比的甲醇-水分离九节龙皂苷 I 的效果，包括纯甲醇、90%甲醇、80%甲醇、70%甲醇、60%甲醇。结果显示，80%甲醇出峰时间过早，达不到完全分离的效果，而 70%甲醇出峰时间拖后造成时间和试剂上的浪费，故而最终选定 75%甲醇为流动相，考虑到九节龙皂苷 I 热稳定性良好，结构稳定等因素，直接运用蒸发光检测器的标准推荐参数即可得到良好的分离效果，所以色谱柱条件最终确定为 75%甲醇，检测器漂移管温度：73.8℃；载气体积流量：2.0 L/min。

参考文献：

- [1] 张清华,王晓娟,缪振春,等. 川产九节龙皂苷的化学研究[J]. 药学报,1993,28(9):673-678.
- [2] 陶小军,曹永孝. 九节龙皂苷 I 的抗肿瘤作用和免疫调节作用[J]. 中国药理学通报,2005,21(9):1070-1073.
- [3] 王晓娟,高迎春. 九节龙皂苷对荷瘤小鼠放化疗的增效作用[J]. 中药材,2006,29(9):951-953.

RP-HPLC 法测定竹叶提取物中异荭草素

吴 巍,程秀凤

(天津市尖峰天然产物研究开发有限公司,天津 300457)

摘 要:目的 建立竹叶提取物中异荭草素的 RP-HPLC 的检测方法。方法 色谱条件为 Kromasil C₁₈ 分析柱 (250 mm×4.6 mm,5 μm),柱温:30℃,波长:330 nm,流动相为乙腈-0.1%磷酸,梯度洗脱。结果 异荭草素峰面积与质量浓度成良好线性关系,其线性范围为 25.65~256.5 μg/mL, $r=0.999\ 98$ 。回收率为 100.45%,RSD 为 0.36% ($n=6$)。结论 该法可使竹叶提取物中异荭草素得到良好分离,结果准确、重现性好。

关键词:竹叶提取物;异荭草素;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1333-03

收稿日期:2008-01-24

作者简介:吴 巍(1970—),男,天津人,工程师,长期从事葡萄籽、苹果等提取物检测工作。

Tel: (022)66237090-8023 E-mail: tjnkwwwei@hotmail.com

竹叶含有多钟对人体有益的成分,这些成分包括叶绿素、竹叶多糖、竹叶黄酮、特种氨基酸、挥发性成分等^[1,2],其中竹叶黄酮由于具有抗氧化、抗衰老等作用而越来越为人们所重视。新兴的功能性食品添加剂竹叶提取物即是以竹叶黄酮作为其质量指标的,竹叶黄酮中是以炭苷黄酮为主,其中4种主要的炭苷黄酮分别为荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷^[3]。本实验通过 RP-HPLC 梯度洗脱法建立了一个测定竹叶提取物中异荭草素的方法,结果本法快速、准确,重现性好,其测定结果可以作为竹叶提取物质量控制指标之一。

1 仪器和试剂

岛津公司 LC-10ATvp 二元高压液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外可见检测器, HT-130 柱温箱, 7725 手动进样阀, Hamilton 25 μ L 进样针, Anasat 工作站。

竹叶提取物由天津尖峰天然产物研究开发有限公司生产,异荭草素对照品(质量分数大于 99%)购自美国 ChromaDex 公司。乙腈、磷酸、甲醇均为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C₁₈ 分析柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相: 0.1% 磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱: 0~17 min 流动相 B 为 18%, 17~30 min 流动相 B 逐渐上升为 80%;波长: 330 nm;体积流量: 1 mL/min;柱温: 30 $^{\circ}$ C;进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液制备:精密称量异荭草素对照品 10 mg 于 50 mL 量瓶中,加入甲醇适量超声溶解,加甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.45 μ m 滤膜后即得,备用。

2.3 供试品溶液的制备:精密称量竹叶提取物 150 mg 于 25 mL 量瓶中,加入甲醇超声 2 min,放冷至室温,加甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.45 μ m 滤膜,取续滤液即得,备用。

2.4 线性关系考察:精密吸取 1、3、5、7、10 mL 异荭草素对照品溶液于 10 mL 量瓶中,分别加入甲醇定容并摇匀,制成 20、60、100、140、200 μ g/mL 对照品溶液。取上述各溶液 10 μ L 注入液相色谱仪分析,记录异荭草素峰面积。以异荭草素质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $Y=9819.58X-52072.61$, $r=0.99998$,线性范围为 25.65~256.5 μ g/mL。

2.5 精密度试验:精密吸取 100 μ g/mL 异荭草素对照品溶液,在上述色谱条件下,连续重复进样 5

次,测定异荭草素峰面积,计算得其 RSD 为 1.01%。

2.6 重现性试验:取同一批竹叶提取物样品 5 份,制备供试品溶液,进样测定异荭草素峰面积,计算,其平均质量分数为 2.54%,RSD 为 1.02%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液分别在 0、2、4、8、16、24 h 测定异荭草素峰面积,计算,结果其 RSD 为 1.73%,表明供试品溶液中异荭草素在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验:精密称取含异荭草素 2.45% 的竹叶提取物约 30 mg,共 6 份,分别精密加入 0.2456 mg/mL 异荭草素对照品溶液 3 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得异荭草素平均回收率为 100.45%,RSD 为 0.36%。

2.9 样品测定:分别取 5 个批号的竹叶提取物样品,制备供试品溶液,进样测定,用回归方程计算异荭草素的质量分数,结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 竹叶提取物中异荭草素的测定结果

Table 1 Determination of homoorientin in bamboo leaf extracts

批号	异荭草素/%
BK060531-1	2.64
BK060531-2	2.45
BK050710-1	3.47
BK060718-1	3.32
BK060718-2	2.84

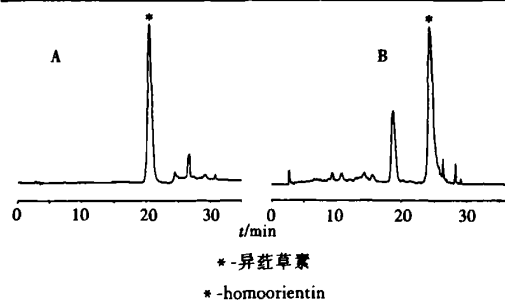


图 1 异荭草素对照品(A)和竹叶提取物样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of homoorientin reference substance (A) and bamboo leaf extract sample (B)

3 讨论

由于竹叶提取物中的 4 种炭苷黄酮的对照品价格都比较高,且都不容易得到,因此要同时测定 4 种黄酮成分还需要植化工作者进一步努力。竹叶提取物中的竹叶黄酮的测定一般是采用紫外分光光度计法^[4]。经本公司生产实际发现竹叶提取物中黄酮的

质量分数不同,其杂质或多或少会干扰测定的准确性,而通过 HPLC 法将竹叶黄酮中的主要成分分离出来并测定,为更准确判定竹叶提取物质量提供了依据。

参考文献:

[1] 张 英.天然功能性竹叶提取物-竹叶黄酮[J].中国食品添加剂

剂,2002(3):54-66.

[2] 吴三林,李书华,弓加文.竹叶活性成分的研究进展[J].乐山师范学院学报,2005,20(5):53-54.

[3] 兰燕字,王爱民,何 讯,等 RP-HPLC 测定注射用复方荛苒冻干粉针中异荛苒素、荛苒素的含量[J].中国药杂志,2005,40(14):1100-1102.

[4] 刘江处,周荣琪.竹叶提取物总黄酮含量测定方法的改进[J].食品科技,2005,7:76-79.

温经丸质量标准研究

曲 佳^{1,2}, 丰景超³, 李艳玉⁴, 吕曙华²

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 天津市药品检验所, 天津 300070; 3. 广西中医学院 研究生部, 广西 南宁 570001; 4. 天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂, 天津 300457)

摘 要:目的 建立温经丸的质量标准。方法 采用薄层色谱法鉴别制剂中党参、吴茱萸、白术,制定处方附子中乌头碱的限量检查方法,采用高效液相色谱法测定处方肉桂中桂皮醛。结果 采用薄层色谱法均能检出党参、吴茱萸及吴茱萸碱、白术;桂皮醛 0.139 2~0.696 0 μg 线性关系良好, $r = 0.999\ 9$, 平均回收率为 97.3%, RSD 为 0.91%。结论 建立的质量标准方法简便、准确,重现性好,可用于温经丸的质量控制。

关键词:温经丸;党参;吴茱萸;白术;薄层色谱;桂皮醛;高效液相色谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1335-04

温经丸为《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 1 册载品种,由党参、白术、茯苓、肉桂、干姜、厚朴、黄芪、郁金、沉香、吴茱萸、附子 11 味中药组成,具有养血温经,散寒止痛的功效,用于妇女血寒,经期腹痛,腰膝无力,湿寒白带,血色暗淡,子宫虚冷等症。为了提高质量标准,有效地控制药品质量,本实验采用 TLC 法对处方中党参、吴茱萸、白术进行定性鉴别;建立附子中乌头碱的限量检查方法;鉴于肉桂具有散寒止痛,活血通经的功效,故采用 HPLC 法,以桂皮醛为定量指标,建立处方中肉桂的测定方法。修订后的质量标准方法简便、准确,重现性好,可用于温经丸的质量控制。

1 仪器与材料

日本 Shimadzu LC-2010AHT 高效液相色谱仪,LC Solution 工作站。Mettler AE 260 万分之一电子天平,Mettler Toledo AG 135 十万分之一电子天平,CAMAG Linomat 5 半自动点样仪,CAMAG Reprostar 3 薄层色谱成像仪。

党参对照药材(批号:121057-200504)、吴茱萸碱对照品(批号:110802-200504)、吴茱萸对照药材(批号:120909-200508)、白术对照药材(批号:

120925-200407)、乌头碱对照品(批号:110720-200410)、桂皮醛对照品(批号:110710-200212)均购自中国药品生物制品检定所;温经丸由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供,9 g/丸;缺党参、吴茱萸、白术和附子的阴性对照样品均由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供;高效液相用乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 党参:取本品 10 g,剪碎,加硅藻土 5 g,研匀,加甲醇 100 mL,超声处理 45 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 6 mL 使溶解,置 C_{18} 固相萃取小柱(500 mg,用甲醇、20%甲醇各 10 mL 预洗)中,依次用 20%甲醇、甲醇各 5 mL 洗脱,收集甲醇洗脱液,浓缩至 1 mL,作为供试品溶液;同法制成缺党参阴性对照样品溶液。另取党参对照药材 1 g,加甲醇 25 mL,按供试品溶液的制备方法自“超声处理 45 min”起依法制备,制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 6 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(7:1:0.5)为展开剂,展开,取

收稿日期:2007-11-08

作者简介:曲 佳(1981—),女,天津人,药师,2004 年毕业于天津中医学院中药系,现为天津大学在读硕士研究生,研究方向为药物分析与质量控制。Tel: (022)23374076 E-mail: qj4599@sina.com

RP-HPLC法测定竹叶提取物中异荭草素

作者: [吴巍](#), [程秀凤](#)
作者单位: [天津市尖峰天然产物研究开发有限公司, 天津, 300457](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (9)
被引用次数: 1次

参考文献(4条)

1. [张英](#) 天然功能性竹叶提取物-竹叶黄酮[期刊论文]-[中国食品添加剂](#) 2002 (03)
2. [吴三林](#); [李书华](#); [弓加文](#) 竹叶活性成分的研究进展[期刊论文]-[乐山师范学院学报](#) 2005 (05)
3. [兰燕宇](#); [王爱民](#); [何讯](#) RP-HPLC测定注射用复方荭草冻干粉针中异荭草素、荭草素的含量[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2005 (14)
4. [刘江处](#); [周荣琪](#) 竹叶提取物总黄酮含量测定方法的改进[期刊论文]-[食品科技](#) 2005 (07)

本文读者也读过(8条)

1. [张玉伟](#), [孙武兴](#), [李铄](#), [李宁](#), [孟大利](#), [ZHANG Yu-wei](#), [SUN Wu-xing](#), [LI Xian](#), [LI Ning](#), [MENG Da-li](#) 沙生蜡菊和淡竹中的一个新萜酸[期刊论文]-[中国药物化学杂志](#)2007, 17 (2)
2. [王松涛](#), [赵建](#), [侯若彤](#), [杨志荣](#), [张杰](#), [WANG Song-tao](#), [ZHAO Jian](#), [HOU Ruo-tong](#), [YANG Zhi-rong](#), [ZHANG Jie](#) 蓖麻粗毒的获取及草原灭鼠的应用研究[期刊论文]-[天然产物研究与开发](#)2005, 17 (3)
3. [王志强](#) HPLC法测定参麻通络胶囊中阿魏酸的含量[期刊论文]-[河北医药](#)2009, 31 (15)
4. [陈敏珊](#) 竹叶提取物的研究及竹叶提取物牙膏的研制[期刊论文]-[牙膏工业](#)2008, 18 (1)
5. [吴三林](#), [李书华](#), [弓加文](#) 竹叶活性成分的研究进展[期刊论文]-[乐山师范学院学报](#)2005, 20 (5)
6. [童晓滨](#), [谢好](#), [宋卫军](#), [TONG Xiao-bin](#), [XIE Yu](#), [SONG Wei-jun](#) 联合法提取雷竹叶多糖及其红外光谱的研究[期刊论文]-[宜春学院学报](#)2010, 32 (8)
7. [刘靓雯](#) 柄海鞘 (Styela clava) 天然产物的提取、结构鉴定及生理活性研究[学位论文]2005
8. [李洪玉](#), [孙静芸](#), [戴诗文](#) 竹叶化学成分研究[期刊论文]-[中药材](#)2003, 26 (8)

引证文献(1条)

1. [倪勤学](#), [刘颖坤](#), [龚凌霄](#), [林新春](#), [方伟](#), [张英](#) 6种地被竹叶有效成分及其抗氧化活性研究[期刊论文]-[中草药](#) 2011 (11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809018.aspx