

HPLC 法测定银杏叶片剂中总黄酮甙的含量

杨如同, 韩福贵, 潘福生

(江苏省植物研究所, 江苏南京 210014)
中国科学院

Determination of total flavonoid glycoside in *Ginkgo biloba* leaf tablet by HPLC YANG Ru-tong, HAN Fu-gui, PAN Fu-sheng (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2001, 10(4): 57-58

Abstract: Total flavonoid glycoside was isolated from *Ginkgo biloba* Linn. leaf tablet and determined by RP-HPLC using quercetin as external standard. 4.6 mm × 100 mm Spherisorb ODS column, mobile phase: $V(\text{CH}_3\text{OH}) : V(0.3\% \text{H}_3\text{PO}_4) = 40:60$, flow rate: 1 mL/min, detection: $\lambda = 370 \text{ nm}$. The sample was extracted with CH_3OH by ultrasonic extraction and hydrolyzed with 25% HCl, then sample solution was diluted accurately to 50 mL. This experiment showed that this is a simple, accurate and precise method with the result of fine linearity, average recovery is 101.1% for quercetin, and RSD is 2.44%.

关键词: 银杏; 银杏叶片剂; 槲皮素; 总黄酮甙; HPLC

Key words: *Ginkgo biloba* Linn.; *Ginkgo biloba* leaf tablet; quercetin; total flavonoid glycoside; HPLC

中图分类号: S664.3; S567.1⁺9; Q946.83 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2001)04-0057-02

银杏(*Ginkgo biloba* Linn.)叶提取物(GBE)是银杏叶经提取、分离而得的干浸膏,是银杏叶制剂的主要原料。药理及临床表明,它能增加冠状动脉血流量,可用于动脉硬化及高血压所致的冠状动脉供血不全、心绞痛、心肌梗塞、脑血栓、脑血管痉挛等症^[1]。其活性成分主要是黄酮类和萜内酯^[2]。

银杏叶黄酮类成分的测定方法,有紫外分光光度法和高效液相色谱法,因前者专属性较差,现多数厂家均采用后者。高效液相色谱法测定总黄酮甙的含量时,在对照品的使用上,既有单用槲皮素(quercetin)为对照品的测定方法^[3],也有以槲皮素、山柰酚(kaempferol)和异鼠李素(isorhamnetin)为对照品的测定方法^[4]。甙元换算成总黄酮甙的系数各有不同,因而质量控制标准不一。作者采用反相高效液相色谱法,用槲皮素作对照品外标法测定银杏叶片剂中黄酮甙的含量,然后按一定的系数计算总黄酮甙含量,旨在为银杏叶制剂的质量控制提供参考。

1 材料与与方法

1.1 材料

3种不同厂家生产的银杏叶片剂购自南京市药品商店,对照品槲皮素由中国生物制品检定所提供。

1.2 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(配备 486 型紫外检测器、680 型微处理机、717 型自动进样器),超声波清洗仪(上海超声波仪器厂)。

甲醇(色谱纯),HCl(分析纯), H_3PO_4 (分析纯),重蒸水(自制)。

1.3 样品溶液的制备

准确称取 3 厂家生产的银杏叶片剂样品(相当于 GBE

160 mg),研细,置于 100 mL 三角瓶中,加 40 mL 甲醇溶解,超声波振荡 30 min,过滤,滤液置于 50 mL 容量瓶中,甲醇定容,准确吸取 25 mL 提取液置于 250 mL 茄形瓶中,另加甲醇 50 mL 和 25% HCl 5 mL,水浴回流水解 1 h,取出速冷至室温,转移至 50 mL 容量瓶中,甲醇定容,供分析用。

1.4 对照品溶液的制备

精密称取槲皮素 28 mg,置于 100 mL 容量瓶中,甲醇溶解并定容,供分析用。

1.5 色谱条件

色谱柱: Spherisorb C_{18} (100mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长: 370 nm, 流动相: $V(\text{甲醇}) : V(0.3\% \text{H}_3\text{PO}_4 \text{溶液}) = 40:60$, 流速: 1 mL/min, 柱温: 40℃。

在上述色谱条件下,对照品溶液和样品溶液分别进样分析(前者进样 5 μL ,后者进样 10 μL),结果见色谱图 1 和图 2。

1.6 样品测定

配制的 3 种银杏叶片剂样品分析溶液,在上述色谱条件下,自动进样 10 μL 分别进行分析,测定峰面积,同时进行校正因子测定,求出槲皮素的含量,计算出山柰酚和异鼠李素的含量,再按一定的系数计算总黄酮甙的含量。

2 实验结果

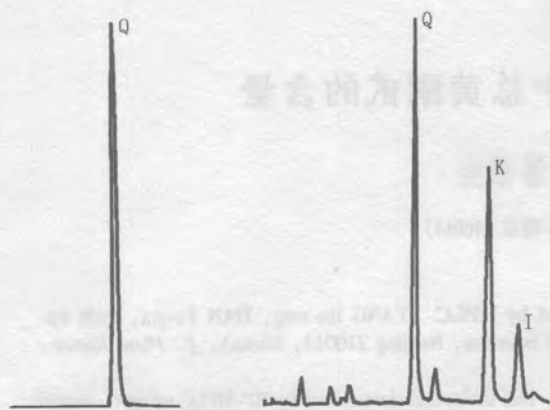
2.1 槲皮素浓度与峰面积相关性

对照品槲皮素制备液 1、3、5、7 和 9 μL 依次进样分析,测定峰面积。求得峰面积与进样量的回归方程:

$$A = 3\ 959\ 323C - 750\ 955.8 \quad r = 0.995\ 9$$

收稿日期: 2001-06-25

作者简介: 杨如同(1975-),男,黑龙江尚志人,大专,主要从事天然产物化学研究。



Q: 槲皮素 quercetin; K: 山柰酚 kaempferol;
I: 异鼠李素 isorhamnetin

图1 对照品 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatogram
of standard substance

图2 样品 HPLC 图谱
Fig. 2 HPLC chromatogram
of the sample

峰面积与进样量的线性范围为 0.28 ~ 2.52 μg , 在此范围内线性关系良好, 相关性显著。

2.2 样品总黄酮甙含量

以槲皮素作对照外标法, 3 种银杏叶片剂中总黄酮甙含量的分析计算结果见表 1。

表1 银杏叶片剂样品中总黄酮甙含量
Table 1 Content of total flavonoid glycoside in the sample of *Ginkgo biloba* leaf tablet

样品号 ¹⁾ No. of the sample ¹⁾	总黄酮甙(mg/片) Total flavonoid glycoside (mg/tablet)	RSD (%)
I	1	11.25
	2	11.02
	3	10.87
	平均值 Average	11.05
II	1	9.34
	2	9.64
	3	9.08
	平均值 Average	9.35
III	1	12.72
	2	12.44
	3	12.66
	平均值 Average	12.61

¹⁾ 1、2、3 为取样重复 1、2、3 are for repetitions of the sample

由表 1 可看出, 不同厂家生产的银杏叶片剂总黄酮甙含量差别较大; 同一厂家生产的同批号产品的总黄酮甙含量基本稳定。II 号样品总黄酮甙含量与其标示量 9.6 mg/片相近 (各厂家生产的片剂标示量皆为 GBE 40 mg/片、黄酮甙 9.6 mg/片), I 和 III 号样品总黄酮甙含量分别高出其标示量 15.1% 和 31.4%。实验结果还显示, 银杏叶片剂的 3 甙元含量顺序是槲皮素最高, 山柰酚其次, 异鼠李素最低, 这与银杏叶中各成分含量比例相一致。表明以槲皮素作对照品, 根据各甙元的峰面积及分子量比进一步计算总黄酮甙含量的方法, 能够反应银杏叶片剂的总黄酮甙含量, 可用作银杏叶制剂总黄酮甙含量的测定。

2.3 精密度

对照品槲皮素制备液进样 5 μL , 连续 5 次平行测定。测定结果 RSD = 2.44%, 表明该方法重复性较好。

2.4 回收率

准确吸取已知含量的 3 号样品溶液各 2 mL, 分别置于 3 只 5 mL 容量瓶中, 再分别准确加入 1 mL 对照品溶液, 甲醇定容, 进样 10 μL , 测定峰面积, 计算回收率, 结果见表 2。由表 2 可以看出, 本方法的回收率为 101.1%, 表明回收率较好。

表2 槲皮素的回收率测定结果
Table 2 Recovery of quercetin

编号 No.	样品中 槲皮素量 Content of quercetin in sample (mg)	加入 槲皮素量 Added weight of quercetin (mg)	测得 槲皮素量 Found amount of quercetin (mg)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
1	0.239	0.280	0.530	103.9	
2	0.228	0.280	0.503	98.2	
3	0.241	0.280	0.525	101.4	
平均值 Average	0.236	0.280	0.519	101.1	2.69

参考文献:

- [1] 罗顺德, 周本宏, 吴克媛. 银杏叶的药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 1995, 23(6): 48-49.
- [2] 刘桂霞, 孙玉玮, 金兆祥. 银杏叶的研究进展 [J]. 国外医药植物学分册, 1994, 9(1): 10-14.
- [3] 陶巧凤, 黄宗玉, 范秀林. 高效液相色谱法测定银杏叶制剂中黄酮含量 [J]. 中成药, 1993, 15(12): 14-15.
- [4] 王新宏, 王智华, 范广平, 等. HPLC 法测定银杏制剂成分 [J]. 中成药, 1996, 18(9): 36-37.

(责任编辑: 宗世贤)