

### 3 讨论

根据表 2 各考察指标的 R 值和表 3 方差分析结果,影响因素主次为 C > A > B,由于因素 B 的离差平方和小于误差项 D 的离差平方和,将其并入误差项。经方差分析,A 因素对实验结果有显著性影响 ( $P < 0.05$ ),C 因素对实验结果有极显著性影响 ( $P < 0.01$ )。从水平优劣上分析, $A_3 > A_2 > A_1$ , $C_3 > C_2 > C_1$ ,因此确定最佳的工艺条件是  $C_3 A_3 B_1$ ,即加 10 倍量水,提取 3 次,每次 1 h。

### REFERENCES

- [1] Standards of State Drug Administration (国家药品监督管理局国家药品标准) [S]. WS3-169 (Z-159) -2001.
- [2] LU ZL, WANG GH, MAO YC. Optimization of the alcohol extracting technology for LiuWeMuXiang tablet by orthogonal test [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18 (4): 915-916.

收稿日期: 2007-11-26

## RP-HPLC 测定开光复明丸中黄芩苷的含量

刘俊芳 (河南科技大学第一附属医院, 河南 洛阳 471000)

**摘要:**目的 建立开光复明丸中黄芩苷的含量测定方法。方法 采用 RP-HPLC 测定制剂中黄芩苷的含量。色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 分析柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2); 流速为 0.9 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长为 280 nm。结果 黄芩苷在 4.95 ~ 49.5 μg · mL<sup>-1</sup> 内线性关系良好 ( $r = 0.9999$ ), 平均回收率为 99.3%, RSD 为 1.25%。结论 本法简便、准确、重现性好, 可用于本制剂的质量控制。

**关键词:** 反相高效液相色谱法; 开光复明丸; 黄芩苷

中图分类号: R917.101; R931.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693 (2008) 02-0150-03

### Determination of Baicalin in Kaiguang Fuming Wan by RP-HPLC

LIU Jun-fang (The First Affiliated Hospital for Henan Scientific University, Luoyang 471000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determination of baicalin in Kaiguang Fuming Wan by RP-HPLC. **METHODS** RP-HPLC analysis was carried out on a Kromasil C<sub>18</sub> column and the mixture of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2) was used as the mobile phase. The flow rate was at 0.9 mL · min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 280 nm. **RESULTS** The linear responses range was 4.95 μg · mL<sup>-1</sup> ~ 49.5 μg · mL<sup>-1</sup> of baicalin ( $r = 0.9999$ ). The average recovery was 99.3% and the RSD was 1.25%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, reproducible. It can be used for the quality control of Kaiguang Fuming Wan.

**KEY WORDS:** RP-HPLC; Kaiguangfuming wan; baicalin

开光复明丸是由梔子(姜炙)、黄芩、黄连、黄柏、大黄、冰片、蒺藜(去刺盐炒)、羚羊角粉等 18 味中药材经加工而制成的大蜜丸。功用清热散风,退翳明目。适用于肝胆热盛引起暴发火眼,红肿痛痒,眼睑赤烂,云翳气蒙,羞明多眵等症。处方中黄芩清热燥湿,泻火解毒,对该制剂的功效具有较大的支持作用。本品收载于《卫生部药品标准——中药成方制剂》,该标准未收载含量测定方法,无法真正控制其内在质量,为了确保药品质量,保证人民用药安全、有效,作者对该制剂中黄芩的主要成分黄芩苷的含量测定进行了研究。采用了反相高效液相色谱法测定黄芩苷的含量,方法简便快捷,准确精密,可作为该制剂质控标准之一。

#### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

日本岛津高效液相色谱仪, LC-10ATvp 二元泵、SPD-10Avp 紫外检测器, 分析之星数据处理工作站。AR2140 型电子天平 (美国奥豪斯)。

#### 1.2 试剂

开光复明丸为市售药品 (山西吕梁中药厂); 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品鉴定所 批号: 110715-200514); 磷酸 (分析纯), 水 (二次蒸馏水), 乙腈为色谱纯, 甲醇为色谱纯、乙醇及其他试剂均为分析纯。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流

作者简介: 刘俊芳, 女, 副主任药师 Tel: (0379) 64830815 E-mail: LLIUU889900@yahoo.com.cn

动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2);检测波长:280 nm;流速:0.9 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:室温;进样量:20 μL。理论塔板数按黄芩苷计算不低于2500,与相邻峰分离度大于1.5。

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取黄芩苷对照品9.9 mg,置100 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,制得对照品储备液。精密吸取黄芩苷对照品储备液3 mL,置10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取重量差异项下的本品,剪碎,混匀,取约1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率250 W,频率30 kHz)1 h,放冷,再称定重量,用70%乙醇补足减失的重量,摇匀,离心,取上清液5 mL,置25 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2.3 阴性对照溶液的制备** 按处方工艺<sup>[1]</sup>制备不含黄芩的阴性样品,按“2.2.2”项下方法操作,制备成阴性对照溶液。

## 2.3 系统适用性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图。供试品溶液在对照品溶液黄芩苷保留时间处有一色谱峰,其保留时间:对照品为19.58 min,供试品为19.70 min,阴性对照色谱图在黄芩苷峰位置无假阳性峰,即本试验条件下黄芩苷与其他组分分离完全,表明其他组分对测定无干扰。黄芩苷与其他组分峰的分离度>1.5,理论塔板数以黄芩苷峰计算为2923。方法专属性强。

## 2.4 线性关系的考察

依次精密吸取黄芩苷对照品储备液0.5、1、2、3、4、5 mL,分别置10 mL量瓶中,用70%乙醇稀释至刻度,摇匀,配制一系列浓度的对照品溶液。在上述色谱条件下,分别取上述溶液各20 μL进样,记录峰面积,以峰面积对浓度进行线性回归,得回归方程为: $C = 0.0028 + 7.01 \times 10^{-6} X$ ,  $r = 0.9999$ 。结果显示,黄芩苷在4.95~49.5 μg·mL<sup>-1</sup>内呈良好的线性关系。

## 2.5 精密度试验

取黄芩苷对照品溶液,按上述色谱条件,重复进样5次,记录峰面积。结果:峰面积的RSD%为1.25%,说明仪器性能良好。

## 2.6 重复性试验

取同一批号样品,按“2.2.2”项下平行制备6份供试品溶液,于上述条件依法进样测定黄芩苷的含量,测得黄芩苷含量的RSD%为0.87%。表明本方法重复性好。

## 2.7 溶液稳定性试验

取同一份供试品溶液,在室温下放置,分别在0、1、4、8、24 h进样测定,结果峰面积的RSD%为1.4%,表明样品溶液在24 h内稳定。

## 2.8 加样回收率试验

精密称取已知黄芩苷含量的样品(批号060309)6份,分

别加入黄芩苷对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备样品溶液,按给定色谱条件,进样测定,按回归方程计算,以实测值与理论值之比计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
3.908	4.48	8.359	99.35		
4.197	4.48	8.528	96.67		
4.139	4.48	8.716	102.17	99.3	1.66
4.249	4.48	8.719	99.78		
4.007	4.48	8.412	98.33		
4.029	4.48	8.484	99.44		

结果显示,用本法测定开光复明丸中黄芩苷的含量,准确度高。

## 2.9 样品测定

取样品,按“2.2”项下溶液的方法制备对照品溶液与供试品溶液,取对照品溶液和供试品溶液各20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图,以峰面积按外标法测定含量,结果见表2。

表2 含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination(n=3)

批号	含量 /mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%
050910	2.260	0.78
051216	2.250	0.62
060309	2.278	1.06

## 3 讨论

**3.1 用高效液相色谱法测定黄芩苷的含量**,可选用多种流动相<sup>[2-5]</sup>,本实验曾比较了多种比例的甲醇-水-磷酸、乙腈-水-磷酸的分离效果,结果以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为优,分离效果好,保留时间适中,而且还避免了使用乙腈毒性大、价格昂贵的缺点。

**3.2 本实验采用了超声提取法**,考察了水、30%乙醇、50%乙醇和70%乙醇的提取效率,结果表明70%乙醇提取效率最高,因此选择70%乙醇为提取溶剂。

**3.3 采用RP-HPLC法测定黄芩苷含量**,操作简便、准确、重现性好,可用于本品的质量控制。同时为修订质量标准提供了依据。

## REFERENCES

- [1] A recovery of the quality standards prescribed pills(Standard People's Republic of China Ministry of Health Drugs Chinese medicine Munces agents Volume III Standard Number: WS3-B-0501-91.
- [2] ZHU X R, ZHU Z S, MA F H, HPLC method for the determination of the double-Shuan Yin qiao baicalin in content[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 1998, 18(Supplement): 234-235.
- [3] GAO C Q, ZHANG S Y, ZHANG H B. RP-HPLC deafness pill Tongqiao baicalin in content [J]. China Med(中国药业), 2003, 12(12): 40-41.

- [4] SU J, XIANG D, ZHANG W J. Determination of Baicalin Yunnan baicalin in content [J]. West China J Pharm Sci (华西药理学杂志), 2005, 20(4): 356-358
- [5] HU Y, LU L. HPLC Determination of cerebral blood pressure

tablets baicalin content [J]. J Jiangxi Coll Tradit Chin Med (江西中医学院学报), 2005, 17(4): 38-39.

收稿日期: 2007-10-11

## 高效毛细管电泳法测定乌骨藤药材及其制剂中绿原酸的含量

赵陆华, 相秉仁\*, 谭喜莹 (药物质量与安全预警教育部重点实验室, 中国药科大学分析测试中心, 南京 210009)

**摘要:**目的 建立毛细管电泳法测定乌骨藤药材及其制剂中绿原酸的含量。方法 未涂层毛细管柱 (50  $\mu\text{m}$   $\times$  50 cm, 有效长度 42 cm); 缓冲液: 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼酸与 10% 甲醇 (NaOH 溶液调节至  $\text{pH} = 8.0$ ); 分离电压: 30 kV; 检测波长: 328 nm; 温度: 25  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样条件: 50 mbar, 5.0 s。结果 绿原酸浓度在 21.0 ~ 105.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内线性关系良好,  $r = 0.9997$ , 平均回收率为 99.16%,  $\text{RSD}$  为 0.8%。结论 本法简便、准确、重复性好, 可为乌骨藤药材及其制剂的质量研究提供一种新的分析方法。

**关键词:** 乌骨藤; 绿原酸; 毛细管电泳; 消癌平片; 消癌平注射液

中图分类号: R931.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)02-0152-03

### Determination of Chlorogenic Acid in *Marsdenia tenocissima* and Its Preparations by High Performance Capillary Electrophoresis

ZHAO Lu-hua, XIANG Bing-ren\*, TAN Xi-ying (Drug Quality Control and Pharmacovigilance Laboratory, Ministry of Education, Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a determination method for chlorogenic acid of *Marsdenia tenocissima* and two relative preparations, Xiaoaiping tablets and Xiaoaiping injections, by capillary electrophoresis. **METHODS** The separation was carried out in an uncoated fused silica capillary (50  $\mu\text{m}$   $\times$  50 cm). The running voltage was 30 kV. The buffer was 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  boric acid ( $\text{pH} 8.0$ ) containing 10% methanol, and the wavelength was 328 nm. **RESULTS** The linear range of the calibration curve was 21.0 ~ 105.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r = 0.9997$ ), and the average recovery was 99.16%,  $\text{RSD}$  was 0.8%. **CONCLUSION** This method is proved to be simple, rapid and accurate, and can be used as a new method for the quality control of *Marsdenia tenocissima* and its preparations. **KEY WORDS:** *Marsdenia tenocissima*; chlorogenic acid; capillary electrophoresis; Xiaoaiping table; Xiaoaiping injection

乌骨藤, 又名通光藤, 为萝藦科植物乌骨藤 *Marsdenia tenocissima* (Roxb) Wight et Arn 的藤茎, 主产于贵州、云南等地, 具有消炎、平喘、抗肿瘤之功效<sup>[1]</sup>。其单味药制剂消癌平片、消癌平注射液收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第二十册, 临床上用于食道癌、胃癌、肺癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤的治疗, 并可用于治疗慢性气管炎和支气管哮喘<sup>[2]</sup>。绿原酸是乌骨藤药材及其制剂中的主要活性成分之一, 具有抗诱变、抗菌、抗病毒等作用。目前, 乌骨藤及其制剂中绿原酸的含量测定方法主要有高效液相色谱法和分光光度法<sup>[3,4]</sup>, 毛细管电泳法 (HPCE) 测定乌骨藤中绿原酸的含量尚未见报道。笔者首次建立了 HPCE 法测定乌骨藤药材及其制剂中绿原酸的含量, 方法简单快捷, 结果令人满意, 为该药材及其制剂的质量研究提供了一种新方法。

#### 1 仪器与试剂

HPG1600A 毛细管电泳仪 (美国安捷伦公司), DAD 检测

器, HP 化学工作站。熔融石英毛细管 (河北永年光纤厂)。

绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110753-200212); 乌骨藤药材 (产地云南, 南京圣和制药厂提供), 经中国药科大学宋学华教授鉴定为乌骨藤 *Marsdenia tenocissima*; 消癌平片剂及消癌平注射液 (南京圣和制药厂提供)。

硼酸、氢氧化钠均为分析纯; 甲醇为色谱纯; 水为乐百氏纯净水。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 电泳条件

毛细管柱: 未涂层毛细管柱 (50  $\mu\text{m}$   $\times$  50 cm, 有效长度 42 cm); 缓冲液: 200  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼酸和 10% 甲醇 (NaOH 溶液调节至  $\text{pH} = 8.0$ ); 分离电压: 30 kV; 检测波长: 328 nm; 温度: 25  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样条件: 50 mbar, 5.0 s。每天分析之前, 用 0.1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液冲洗毛细管 10 min, 纯净水冲洗 15 min, 运行缓冲液冲洗 10 min。进样前分别用 0.1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK2005100)

作者简介: 赵陆华, 女, 副研究员 Tel: (025) 83271185 E-mail: zhaoluhua@hotmail.com \* 通讯作者: 相秉仁, 教授, 博士生导师