

速率的影响,所用贴剂的处方为表4中1~5号贴剂。从表5可见,含有添加剂的青蒿琥酯贴剂的透皮速率和累计透过量均较已结晶的、未加添加剂的贴剂高。这是因为在基质中的高分子添加剂能抑制药物的结晶,提高基质中游离药物的浓度,从而提高药物的透皮速率。由该结果可知,PVP-K30有很好的抑晶效果,且以PVP-K30为添加剂制备的青蒿琥酯贴剂透皮速率最高,PVP-K30抑晶的合适浓度为10%。

表5 高分子添加剂对青蒿琥酯经皮渗透速率和累计透过量的影响

| 处方序号 | 国民淀粉5号/% | 高分子添加剂           | 经皮渗透速率/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) | 累计透过量/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) |
|------|----------|------------------|---|--|
| 1    | 75       | 0                | 20.3±1.0  | 481.3±50.0                                     |
| 2    | 65       | Eudragit EPO 10% | 31.8±9.3  | 676.0±171.8                                    |
| 3    | 70       | PVP-K30 5%       | 34.0±4.2  | 723.1±65.9                                     |
| 4    | 65       | PVP-K30 10%      | 34.2±5.9  | 745.7±107.2                                    |
| 5    | 60       | PVP-K30 15%      | 26.8±2.9  | 585.4±65.0                                     |

## 2.6 最佳处方的验证

用表4中处方4贴剂工艺进行最佳处方验证。制备3批贴剂样品,以表5中的4号贴剂为参比贴剂,比较其外观(结晶情况)和体外透皮速率,考察工艺的重现性。结果见表6。

表6 3批贴剂样品的外观、经皮渗透速率和累积透过量

| 贴剂批号 | 外观 |    | 经皮渗透速率/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ) | 累计透过量/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) |
|------|----|----|---|--|
|      | 1周 | 6周 |   |  |
| 1    | —  | —  | 31.0±2.9  | 692.4±65.1                                     |
| 2    | —  | —  | 37.4±6.9  | 798.9±126.4                                    |
| 3    | —  | —  | 35.1±2.1  | 795.7±41.3                                     |
| 参比贴剂 | —  | —  | 34.2±5.9  | 745.7±107.2                                    |

“—”未结晶;“+”少量结晶;“++”多量结晶

从表6可知,3批贴剂的外观和体外透皮速率的平均数据与参比贴剂数据基本一致。

## 3 结论

在青蒿琥酯压敏胶贴剂中加入 Eudragit EPO、PVP-K30 可有效抑制药物结晶,提高青蒿琥酯在基质中的载药量。10% Eudragit EPO 和 10% PVP-K30 均能使青蒿琥酯在基质中的结晶浓度从约 10% 提高至大于 25%。体外透皮试验的结果表明,添加 Eudragit EPO、PVP-K30 的青蒿琥酯贴剂和未加高分子添加剂的贴剂储存 6 周后,含添加剂贴剂的青蒿琥酯的累计透过量比无添加剂贴剂的要高。这些研究结果表明提高青蒿琥酯在基质中的载药量将有利于其开发成临床应用的贴剂。

## 参考文献

- [1] 侯海霞,周莉玲,李锐. 经皮给药系统对青蒿琥酯吸收的影响研究[D]. 广州:广州中医药大学,2000.
- [2] 谢蓓. 青蒿琥酯及注射用青蒿琥酯中有关物质的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志,2004,35(9):540-542.
- [3] Wang Q, Tomohiro H, Kakuji T. Skin penetration enhancement by the synergistic effect of supersaturated dissolution and enhancers [J]. J Chem Eng Jap,2003,36(1):92-97.
- [4] Kim J H, Chio H K. Effect of additives on the crystallization and the permeation of ketoprofen from adhesive matrix [J]. Int J Pharm,2002,236(1/2):81-85.
- [5] Karing K, Sophie-Dorothee C. Crystallization inhibition in solid dispersions of MK-0591 and poly(vinylpyrrolidone) polymers [J]. J Pharm Sci,2000,89(10):1325-1334.
- [6] Ma X H, Taw J, Chinan C M. Control of drug crystallization in transdermal matrix system [J]. Int J Pharm,1996,(142):115-119.

(收稿日期 2009-01-16)

## RP-HPLC 法测定金银花及金芪降糖片中的绿原酸

杨 茉<sup>1</sup>, 周 晶<sup>1\*</sup>, 宁 娜<sup>1</sup>, 张金红<sup>1</sup>, 王 欣<sup>2</sup>

(1. 天津医科大学药学院, 天津, 300070; 2. 天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂, 天津 300457)

**摘要:**目的 建立同时测定金银花及金芪降糖片中绿原酸的反相高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Diamondsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)为流动相, 检测波长为 327 nm, 体积流量为 1.0 mL/min。结果 在上述条件下测定金银花中绿原酸为 2.49%, 金芪降糖片中绿原酸为每片 8.776 mg。结论 本方法操作简单、结果准确、回收率高、重现性好, 可用于金银花及金芪降糖片的质量控制。

**基金项目** 天津市科技攻关项目(06YFGPSH02900)

**作者简介** 杨 茉(1983—), 女, 天津医科大学 2006 级硕士, 研究方向: 天然药物化学。  
Tel: 13612034453, E-mail: yangmo0304@tom.com

\* **通讯作者** 周 晶, Tel: 13920680193, E-mail: zhoujing@tjmu.edu.cn

关键词:金银花;金芪降糖片;绿原酸;反相高效液相色谱法

中图分类号:R286.0

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2009)04-0237-04

## Determination of chlorogenic acid content in *Flos loniceræ* and Jinqi Jiangtang Tablet by RP-HPLC

YANG Mo<sup>1</sup>, ZHOU Jing<sup>1</sup>, NING Na<sup>1</sup>, ZHANG Jin-hong<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>2</sup>

(1. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin Longshunrong Pharmaceutical Factory, Tianjin 300457, China)

**Abstract: Objective** To establish a reversed-phase HPLC (RP-HPLC) method for the determination of chlorogenic acid content in *Flos loniceræ* and Jinqi Jiangtang Tablet. **Methods** The separation of chlorogenic acid was carried out by using the Diamondsil C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase containing acetonitrile-0.4% orthophosphoric acid (13:87) and a detective wavelength at 327 nm. The flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The contents of chlorogenic acid in *Flos loniceræ* and Jinqi Jiangtang Tablet were 2.49% and 8.776 mg/t, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate with good recovery and repeatability. It can be used to control the quality of *Flos loniceræ* and Jinqi Jiangtang Tablet.

**Key words:** *Flos loniceræ*; Jinqi Jiangtang Tablet; chlorogenic acid; RP-HPLC

金芪降糖片为一种纯中药制剂,主要由黄芪、金银花、黄连等组成,有清热益气的功能,用于消渴病气虚内热症。其中金银花具有清热解毒、止渴补气的功效以及提高免疫力、减少胆固醇吸收的作用。金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾,始见于《本草纲目》,具有清热解毒、凉风散热之功效<sup>[1]</sup>。绿原酸类化合物是金银花的主要有效成分<sup>[2]</sup>。目前还没有制定金芪降糖片中绿原酸的质量标准,因此以绿原酸为指标,采用 RP-HPLC 法测定了金银花及金芪降糖片中绿原酸的量<sup>[3-4]</sup>。

## 1 材料

### 1.1 仪器

美国 Waters 高效液相色谱仪:Millennium 系统工作站、2487 型紫外-可见检测器、Waters 恒温柱温箱;SZ-93 自动双重纯水蒸馏水器(上海强运科技有限公司);BP-211D 电子分析天平(德国赛多利斯公司);KS-600D 超声清洗机(宁波科生仪器厂)。

### 1.2 药材与试药

金银花为天津隆顺裕制药厂提供,由天津医科大学药教研室周晔副教授鉴定为忍冬 *L. japonica* Thunb. 的干燥花蕾,符合《中国药典》2005 版一部要求,批号为 J060615、J060703、J060623。

绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110753-200413)、金芪降糖片(批号 0610052、

0610054、0610058,每片 42 g),天津隆顺裕制药厂;乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯;流动相用水为重蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:DIKMA Diamondsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:327 nm;柱温:35 °C, AUFS:2.000,进样量为 10 μL。色谱图见图 1。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称定绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇溶液使之溶解,制成 0.20 mg/mL 的溶液,作为绿原酸对照品储备液(质量浓度为 0.194 8 mg/mL)。精密吸取上述储备液 10 mL 置 50 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇溶液至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

### 2.3 金银花药材供试液的制备

将金银花药材粉碎,过 40 目筛,混合均匀,称取 0.5 g,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,称定质量,加 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液为金银花药材供试液。

### 2.4 金芪降糖片供试液的制备

取同一批号的金芪降糖片 20 片,除去包衣,称取平均片质量,粉碎,过 40 目筛,混合均匀,称取 0.4

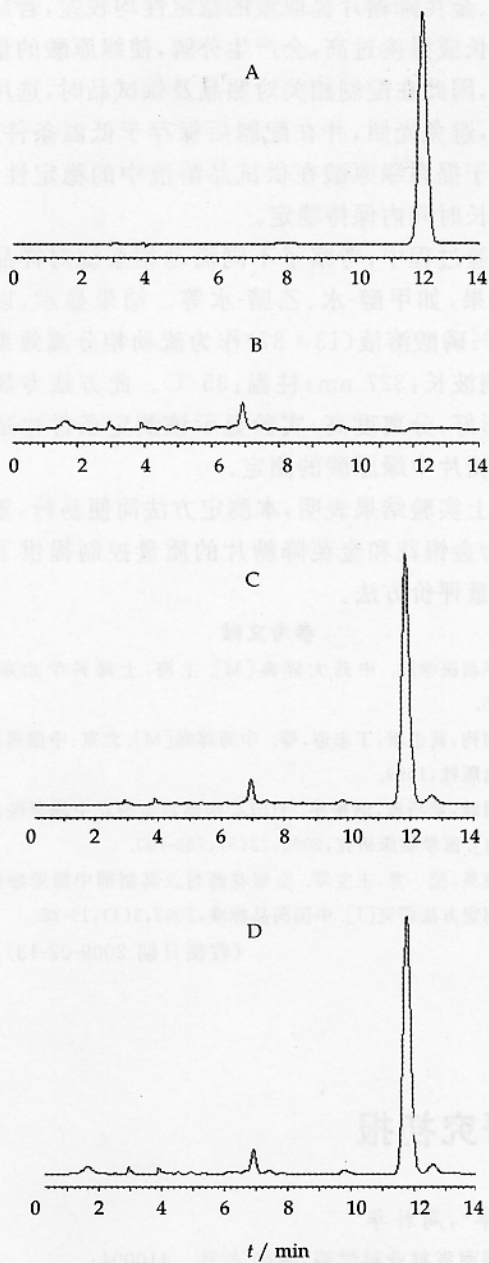


图1 绿原酸对照品(A)、金芪降糖片阴性溶液(B)、金银花药材供试液(C)和金芪降糖片供试液(D)的HPLC图

g,置于100 mL具塞锥形瓶中,加入50%甲醇50 mL,称定,超声处理30 min,放冷,称定质量,加50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液为金芪降糖片供试液。

## 2.5 线性关系的考察

分别精密吸取0.038 9 mg/mL绿原酸对照品溶液4、6、8、10、12、14、16  $\mu$ L,进样,以峰面积为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X),绘制标准曲线,得回归方程为: $Y=3 \times 10^6 X - 40\ 597$ ,  $r^2=0.999\ 8$ 。表

明绿原酸在0.155 8~0.623 4  $\mu$ g呈良好线性关系。

## 2.6 阴性对照试验

取除金银花以外的各原药材,依照处方制得片剂,按照“2.4”项下方法制备金芪降糖片阴性对照液,测定,见图1-B。结果表明,本实验条件下,与绿原酸对应的保留时间下,金芪降糖片中的黄芪、黄连等对本测定方法没有干扰。

## 2.7 精密度试验

取“2.3”项下制备的金银花药材供试品溶液10  $\mu$ L,连续进样6次,测定峰面积。绿原酸峰面积的RSD为1.31%,表明精密度良好。

## 2.8 重现性试验

### 2.8.1 金银花药材的重现性试验

取同一批金银花药材粉末(过40目筛)6份,各0.5 g,按“2.3”项下方法制备金银花药材供试液,并在“2.1”项下色谱条件测定,以外标法计算绿原酸质量分数,得RSD为1.17%。

### 2.8.2 金芪降糖片的重现性试验

取同一批金芪降糖片粉末(过40目筛)6份,各0.4 g,按“2.4”项下方法制备金芪降糖片的供试液,并在“2.1”项下色谱条件测定,以外标法计算绿原酸质量分数,得RSD为1.42%。

## 2.9 稳定性试验

### 2.9.1 金银花药材的稳定性试验

称取同一批金银花药材粉末(过40目筛)0.5 g,按“2.3”项下方法制备金银花药材供试液,并于0、2、4、6、8 h分别进样,测定峰面积。绿原酸峰面积的RSD为0.67%。

### 2.9.2 金芪降糖片的稳定性试验

称取同一批金芪降糖片粉末(过40目筛)0.4 g,按“2.4”项下方法制备金芪降糖片的供试液,并于0、2、4、6、8 h进样测定绿原酸的峰面积,RSD为1.56%。

## 2.10 加样回收率试验

### 2.10.1 金银花药材的加样回收率试验

精密称取金银花药材(批号J060615)过筛粉末9份,每份0.5 g,加入的绿原酸对照品的量相当于药材中绿原酸量的80%、100%、120%,按“2.3”项下方法提取,并测定,以外标法计算绿原酸的量,得回收率为101.16%,RSD为1.77%。

### 2.10.2 金芪降糖片的加样回收率试验

精密称取金芪降糖片(批号0610052)过筛粉末9份,每份0.2 g,加入的绿原酸对照品的量相当于



金芪降糖片样品中绿原酸量的80%、100%、120%，然后按“2.4”项下方法提取，并测定，以外标法计算绿原酸的量，得回收率为100.22%，RSD为1.88%。

## 2.11 金银花药材及金芪降糖片中绿原酸的测定

### 2.11.1 金银花药材中绿原酸的测定

取不同批号的金银花粉末(过40目筛)0.5g，分别依照“2.3”项下方法提取，在“2.1”项色谱条件下测定，以外标法计算金银花药材中绿原酸的量，结果见表1。

表1 不同批号金银花药材中绿原酸的量(n=3)

| 批号      | 绿原酸/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------------------|
| J060615 | 25.55                     |
| J060703 | 24.50                     |
| J060623 | 24.74                     |

### 2.11.2 金芪降糖片中绿原酸的测定

取不同批号的金芪降糖片各20片(每片0.42g)，分别按照“2.4”项下方法处理，在“2.1”项色谱条件下测定，以外标法计算金芪降糖片中绿原酸的量，结果见表2。

表2 不同批号金芪降糖片中绿原酸的量(n=3)

| 批号      | 绿原酸/(mg·片 <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------------------|
| 0610052 | 8.964                     |
| 0610054 | 8.668                     |
| 0610058 | 8.696                     |

## 3 讨论

在实验中发现，绿原酸对照品溶液、金银花药材

提取液、金芪降糖片提取液的稳定性均较差，若放置时间较长或温度过高，会产生分解，使绿原酸的量发生变化，因此在配制相关对照品及供试品时，选用棕色量瓶，避免光照，并在配制后保存于低温条件下，目的在于提高绿原酸在供试品溶液中的稳定性，使之在较长时间内保持稳定。

实验过程中，考察了不同流动相系统对样品的分离效果，如甲醇-水、乙腈-水等。结果显示，以乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)作为流动相分离效果最好，检测波长:327nm;柱温:35℃。此方法专属性强，峰形好，分离度高，实验显示该测定条件也适合金芪降糖片中绿原酸的测定。

以上实验结果表明，本测定方法简便易行，重现性好，为金银花和金芪降糖片的质量控制提供了客观的定量评价方法。

### 参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学出版社, 1985.
- [2] 徐国钧, 黄泰康, 丁志遵, 等. 中药辞海[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1999.
- [3] 刘明斌, 童巧珍, 谢振宇. HPLC法测定金银花中绿原酸的含量[J]. 医学临床研究, 2006, 23(5): 759-760.
- [4] 曾晓英, 倪龙, 王宝琴. 金银花药材及其制剂中绿原酸的含量测定方法研究[J]. 中国药品标准, 2002, 3(1): 19-22.

(收稿日期 2009-02-13)

## 莫邪菊的离体培养研究初报

彭晓英<sup>1</sup>, 彭尽晖<sup>3</sup>, 张良波<sup>2</sup>, 黄圣卓<sup>1</sup>, 周朴华<sup>1</sup>

(1 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南省林业科学院, 湖南长沙 410004;

3. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南长沙 410128)

**摘要:**目的 为建立莫邪菊的离体培养体系。方法 以成熟果实中的种子为外植体, 探讨不同生长调节剂对离体培养中愈伤组织诱导、不定芽的分化和试管苗生根的影响。结果 培养基配方为MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L时, 种子破壳萌发率为70%, 胚轴处愈伤组织诱导率为100%; MS+6-BA 2.0 mg/L为合适的丛生芽诱导和增殖培养基配方, 培养基为MS0时生根率为95%, 生根效果好且配方简单, 移栽的试管苗成活率可达95%。  
**结论** 该试验建立的离体培养体系可用于莫邪菊的离体培养。

**关键词:**莫邪菊; 离体培养; 愈伤组织; 不定芽; 种子

中图分类号: S336

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)04-0240-04