

表 2 $L_{16}(4^4)$ 正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of $L_{16}(4^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	55.08
2	1	2	2	2	81.72
3	1	3	3	3	88.93
4	1	4	4	4	79.01
5	2	1	2	3	78.10
6	2	2	3	4	93.45
7	2	3	4	1	83.97
8	2	4	1	2	52.82
9	3	1	3	4	60.95
10	3	2	4	3	96.61
11	3	3	1	2	79.91
12	3	4	2	1	76.30
13	4	1	4	2	85.78
14	4	2	1	1	68.62
15	4	3	2	4	71.33
16	4	4	3	3	61.85
K_1	304.74	279.91	256.43	283.97	
K_2	308.34	340.40	307.45	302.23	
K_3	313.77	324.14	305.18	325.49	
K_4	287.58	269.98	345.37	304.74	
极差 R	26.16	70.40	89.92	41.52	
较优水平	3	2	4	3	

2.6 微波萃取与其他方法对比:根据实验取得的优化条件,与采取不同的提取方法^[2]进行比较,结果见表 3,结果表明微波法萃取时间仅用 9 min,而萃取率也大大增加。

表 3 微波辅助与其他方法的对比

Table 3 Comparison of microwave-assistant to other extracting methods

方法	时间	提取率/%
水煎煮	1.5~2 h	18.51
酸碱煎煮	>12 h	57~76
甲醇回流	>12 h	47.45
乙醇微波萃取	9 min	

3 结论

本实验在微波辐射条件下,采用正交试验法对影响提取率的萃取时间、微波功率及不同萃取液等因素进行了讨论,确定了微波萃取的最佳条件对槐米中芦丁的萃取反应进行了比较研究。最佳反应条件为:辐射时间:9 min;微波功率:480 W;原料中槐米与乙醇比为 1:20,提取率为 97.98%。

结果表明:微波辅助提取槐米中的芦丁与传统萃取法比较,不仅使萃取速度显著提高节省能源,而且萃取收率较之要高,是一种很好的提取芦丁的方法。

References:

- [1] Wang L J, Li J, Zhang L J, et al. An improved method to rutin from *Budo of Sophora japonica* under microwaves. [J]. *J Northeast Fores Univ* (东北林业大学学报); 2003, 31 (3) 36-37.
- [2] Fu Q, Liang M, Chang C, et al. Determination of rutin in *Flor Sophorae* by thin layer chromatography-chemical deviation fluorospectrophotometry [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学) 2002, 19 (2) 142-144.

HPLC 法测定外用应急软膏中黄芩苷

曹继军

(辽东学院医学院,辽宁 丹东 118000)

外用应急软膏主要由黄芩、白芍、丹参、补骨脂、人参、党参、金银花、茯苓等 15 味中药组成,具有消肿止痛,抗感染,促进伤口愈合的功效,用于冻疮,Ⅰ度烫伤,手足皲裂等症。方中黄芩为君药,其有效成分为黄芩苷。本实验采用 HPLC 法测定软膏中黄芩苷,方法简便、准确、重现性好。

1 仪器与试剂

日本 Shimadzu 公司 LC-10Avp 高效液相色谱仪;Anastar 工作站。

黄芩苷对照品购自中国药品生物制品检定所,批号:715-200010;甲醇为色谱纯;水为二次蒸馏水;

其他试剂均为分析纯;外用应急软膏为威海申威药业有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:CR HPLC Column- C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水-磷酸 (50:50:0.2);体积流量:0.8 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:18 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。在上述色谱条件下黄芩苷峰的保留时间约为 20 min,理论板数按黄芩苷峰计大于 3 000。

2.2 线性关系考察:精密称取在 60 $^{\circ}$ C 减压下干燥 4 h 的黄芩苷对照品 12.12 mg,置 100 mL 量瓶中,

加甲醇溶解至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密吸取此液 2.5、3.7、5.0、6.3、7.5 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。分别吸取 10 μ L 注入液相色谱仪中,测定峰面积。以黄芩苷进样量(mg)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y=1\,094.98+4\,466\,554.61X$, $r=0.999\,8$ 。结果表明黄芩苷在 0.1212~1.212 μ g/mL 与峰面积呈良好的线性。

2.3 空白试验:按样品处方比例及制备方法制备不含黄芩的阴性样品,再按样品溶液的制备方法制成空白溶液,在与样品测定的相同色谱条件下测定。结果阴性样品在黄芩苷峰相同保留时间处未见色谱峰,表明阴性样品无干扰,见图 1。

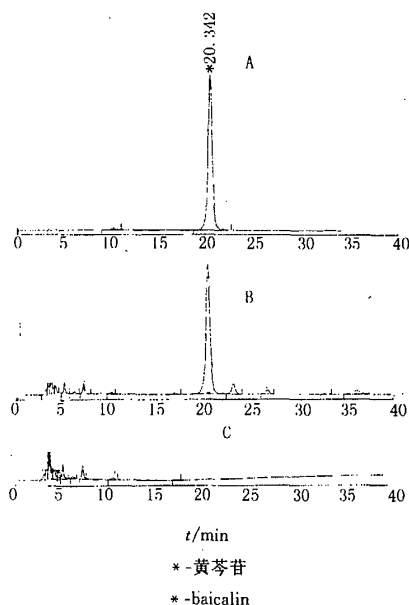


图 1 黄芩苷对照品(A)、外用应急软膏(B)和缺黄芩的阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of baicalin reference substance (A), Waiyong Yingji Ointment (B), and negative sample (C)

2.4 精密度试验:分别精密吸取 60.6 μ g/mL 黄芩苷对照品溶液及 20041201 批供试品溶液各 10 μ L,连续进样 5 次,测定峰面积,结果黄芩苷峰面积的 RSD 分别为 1.04%、1.11%。

2.5 稳定性试验:取同一份供试品溶液分别在 0、

2、4、8、24、32、48 h 精密吸取 10 μ L 进样测定,记录黄芩苷峰面积,结果其 RSD 为 1.35%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.6 重现性试验:取批号 20041201 样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得黄芩苷质量分数的 RSD 为 1.08%。

2.7 回收率试验:取批号 20041201 样品约 5 g,精密称定 9 份,分别加入 48.48、60.6、72.72 μ L 黄芩苷对照品溶液各 3 份,制备供试品溶液,进样,测定,结果平均回收率为 96.6%,RSD 为 1.88%。

2.8 样品的测定:取质量差异项下的本品,混匀,取 10 g,精密称定,用 50%甲醇 80 mL 于 80 $^{\circ}$ C 水浴上回流提取 3 次,每次 20 min,每次稳定后烧杯置冰水浴中冷却 20 min,倾出甲醇溶液,合并甲醇提取液,置分液漏斗中,用 50%甲醇饱和石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)萃取 3 次,每次 20 mL,弃去醚液,提取液置水浴上蒸干,残渣用 50%甲醇定量转移至 10 mL 量瓶中,加 50%甲醇至刻度,摇匀,再精密吸取上述溶液 2 mL 置 5 mL 量瓶中,加 50%甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。取上述溶液用微孔滤膜滤过,精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,采用外标法计算黄芩苷的质量分数,结果见表 1。

表 1 外用应急软膏中黄芩苷的测定结果($n=5$)

Table 1 Contents of baicalin in Waiyong Yingji Ointment ($n=5$)

批 号	黄芩苷/(mg $\cdot$ 支 $^{-1}$)	RSD/%
20041201	1.84	1.23
20050601	1.73	1.06
20050803	1.91	1.15

3 讨论

黄芩为外用应急软膏中的主要成分之一,黄芩苷为其主要的活性成分,原标准《中华人民共和国卫生部新药转正》第七册中,黄芩苷的测定方法是在薄层板上做标准曲线,然后刮板采用紫外分光光度法测定,误差很大,方法繁琐,本实验改用 HPLC 法测定其中黄芩苷,方法简便、准确,重现性好。

测定结果表明,同一生产单位不同批次的产品中黄芩苷的量稳定,这说明在生产过程中所用的药材质量和提取工艺稳定,并且采用 HPLC 法测定其中黄芩苷的量可行。