

- [10] 齐香君,李楠,单燕凤,等. HPLC测定祖师麻中紫丁香苷[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1243-1244.
- [11] 静芸芸,单进军,刘嘉,等. 高效液相法测定祖师麻中3种苯丙素成分的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(3): 47-48.
- [12] 王晓云,邱立杰,刘静洁. HPLC法测定祖师麻片中祖师麻甲素的含量[J]. 中国药事, 2003, 17(14): 232-233.
- [13] 党秋萍,周军,刘建峰. HPLC法测定祖师麻药材中祖师麻甲素的含量[J]. 陕西中医, 2006, 27(6): 734-735.

HPLC法测定丹参清解口服液中原儿茶醛和黄芩苷

吴丽红, 储忠英, 刘惠军
(上海市松江食品药品检验所, 上海 201600)

摘要:目的 用 HPLC 测定丹参清解口服液(丹参、黄芩、白芷、桑白皮、麦饭石)中原儿茶醛和黄芩苷。方法 采用高效液相色谱法,色谱柱为 C₁₈柱(250 mm×4.6 mm 5 μm),以甲醇为流动相 A,以 1% 醋酸溶液为流动相 B,梯度洗脱,检测波长为 280 nm;体积流量 1.0 mL/min。结果 原儿茶醛对照品在 2.460~29.52 μg/mL 范围内呈良好线性关系;黄芩苷对照品在 4.843 8~58.126 0 μg/mL 范围内呈良好线性关系,原儿茶醛平均加样回收率为 100.5% (n=6),RSD 为 0.95% (n=6);黄芩苷平均加样回收率为 100.5% (n=6),RSD 为 0.80% (n=6)。结论 方法简单准确、重现性好,专属性强,阴性对照无干扰,适用于丹参清解口服液的质量控制。

关键词:丹参清解口服液; HPLC; 原儿茶醛; 黄芩苷

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)10-1730-04

Determination of protocatechuic aldehyde and baicalin in Danshen Qingjie Oral Liquid by HPLC

WU Li-hong, CHU Zhong-ying, LIU Hui-Jun
(Shanghai Songjiang Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201600, China)

ABSTRACT: AIM To establish a method for determining protocatechuic aldehyde and baicalin in Danshen Qingjie Oral Liquid (*Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Scutellariae Radix*, *Angelicae dahuricae Radix*, *Mori Cortex*, *Maifahitum*) by HPLC. **METHODS** The HPLC with a C₁₈ column was used. The mobile phases was a mixture of methanol for current phase A, 1% acetic acid solution for current phase B; the form prescribed in the gradient elution. The detection wavelength was 280 nm, flow velocity was 1.0 mL/min. **RESULTS** The linear ranges were 2.460–29.52 μg/mL for protocatechuic aldehyde and 4.843 8–58.126 0 μg/mL for baicalin. The average recovery of protocatechuic aldehyde was 100.45% (RSD was 0.96%). The average recovery of baicalin was 100.30% (RSD was 0.79%). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reproducible with exclusive property. It can be used for quality control of Danshen Qingjie Oral Liquid.

KEY WORDS: Danshen Qingjie Oral Liquid; HPLC; protocatechuic aldehyde; baicalin

丹参清解口服液是复旦大学附属华山医院生产的医院制剂^[1],由丹参、黄芩、白芷、桑白皮、麦饭石五味药材组成,其中丹参和黄芩是主药,具有清热解

毒、活血化瘀之功效,在方中起着重要治疗作用。原制剂质量标准只有丹参和黄芩的定性鉴别和口服剂项下规定的检查项目,为了能更有效地控制该制剂

收稿日期: 2011-06-15

作者简介: 吴丽红(1972—),女,主管药师,主要从事食品药品检验工作。Tel: (021) 57822502, 18917168208, E-mail: wulihong@smda.gov.cn

cn

质量,本实验采用 HPLC 法对制剂中所含原儿茶醛和黄芩苷同时进行定量测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent HP1100 高效液相色谱仪(自动进样器,二极管阵列检测器,四元泵);万分之一电子分析天平(METTLER AG135);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 甲醇(色谱纯,德国默克),水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

1.3 对照品 原儿茶醛对照品(110810-200506)、黄芩苷对照品(110715-200514)供定量测定用,均购自中国药品生物制品检定所。

1.4 样品 丹参清解口服液(复旦大学附属华山医院生产,规格为 10 mL/支,批号 20100708、20100904、20101118)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱^[2-4]: Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm 5 μm);流动相^[5]: 甲醇为流动相 A,以 1% 醋酸溶液为流动相 B,按表 1 中的规定进行梯度洗脱^[2,5-8];检测波长^[2,8-12] 280 nm,体积流量 1.0 mL/min;进样量 10 μL,理论板数按原儿茶醛计算应不低于 4 000。

表 1 梯度洗脱色谱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0~15	13	87
15~18	13→50	87→50
18~30	50	50
30~40	50→70	50→30
40~50	70→13	30→87

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取原儿茶醛对照品和黄芩苷对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含原儿茶醛 10 μg、黄芩苷 20 μg 的混合溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密吸取本品 1 mL,置 5 mL 量瓶中,加 50% 甲醇适量^[6-7],超声处理 30 min^[11],放冷,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为测定原儿茶醛的供试品溶液;精密量取上述续滤液 1 mL,置 100 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为测定黄芩苷的供试品溶液。

2.4 阴性空白样品溶液的制备 按处方组成,分别制备不含丹参和不含黄芩的两种阴性模拟制剂,照上述供试品溶液的制备方法制成空白溶液。

2.5 系统适用性实验 取供试品溶液、对照品溶液和两种阴性空白样品溶液,在上述色谱条件下进样

10 μL,记录色谱图,结果见图 1~5。由色谱图知,理论板数按原儿茶醛峰计算不低于 4 000,原儿茶醛的保留时间约 12.4 min,黄芩苷峰的保留时间约 26.0 min,阴性对照溶液在原儿茶醛峰和黄芩苷峰位置均无干扰峰。原儿茶醛、黄芩苷与其他组分可完全分离。

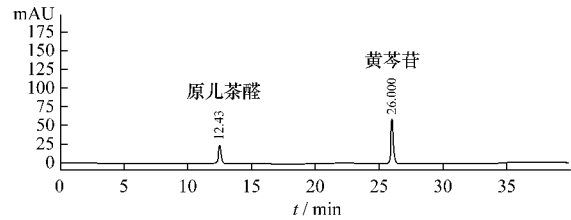


图 1 原儿茶醛和黄芩苷混合对照品 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatogram of mixed standards of protocatechuic aldehyde and Baicalin

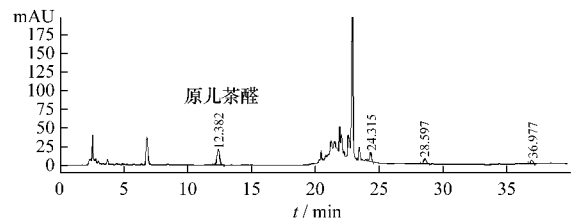


图 2 不含黄芩阴性对照溶液 HPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC chromatogram of negative sample without *Scutellariae Radix*

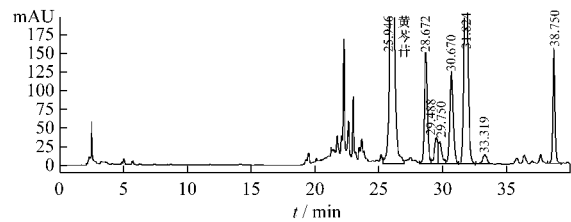


图 3 不含丹参阴性对照溶液 HPLC 色谱图
Fig. 3 HPLC chromatogram of negative sample without *Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

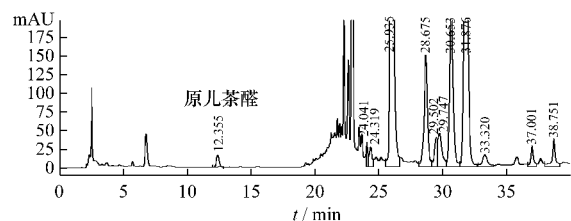


图 4 原儿茶醛供试品溶液 HPLC 色谱图
Fig. 4 HPLC chromatogram of sample for protocatechuic aldehyde

2.6 线性范围

2.6.1 原儿茶醛线性 取原儿茶醛对照品配制成质量浓度分别为 2.460、4.920、9.840、19.68、

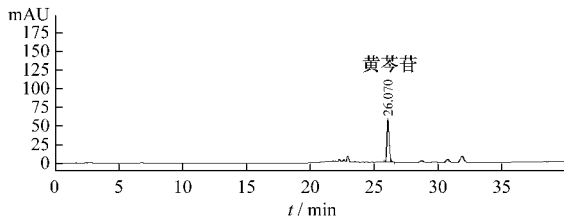


图5 黄芩苷供试品溶液 HPLC 色谱图

Fig. 5 HPLC chromatogram of sample for baicalin

24.60、29.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液,分别进样 10 μL 在上述色谱条件下测定峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,测得回归方程: $Y = 44.70083X - 1.30052$, $r = 0.99999$,表明原儿茶醛在 2.460 ~ 29.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

2.6.2 黄芩苷线性 取黄芩苷对照品配制质量浓度分别为 4.844、9.688、19.376、38.752、48.440、58.126 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液,分别进样 10 μL 在上述色谱条件下测定峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,测得回归方程: $Y = 34.92747X - 1.49265$, $r = 1.00000$,表明黄芩苷在 4.8438 ~ 58.1260 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

样品测定时以外标法两点法计算原儿茶醛和黄芩苷的量。

2.7 精密度实验 分别精密吸取原儿茶醛、黄芩苷同一供试品溶液,连续重复进样 6 次,每次进样 10 μL ,测定原儿茶醛和黄芩苷峰面积积分值,结果原儿茶醛相对标准偏差 RSD 为 0.18% ($n = 6$);黄芩苷相对标准偏差 RSD 为 0.24% ($n = 6$)。

2.8 稳定性实验 分别精密吸取原儿茶醛、黄芩苷同一供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、10、24 h,精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪,测定原儿茶醛和黄芩苷峰面积积分值,结果原儿茶醛相对标准偏差 RSD 为 0.13%;黄芩苷相对标准偏差 RSD 为 0.11%。

2.9 重复性实验 取同一批供试品,分别平行制备 6 份供试液,分别精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪,测定含量,原儿茶醛相对标准偏差 RSD 为 1.27% ($n = 6$),黄芩苷相对标准偏差 RSD 为 1.08% ($n = 6$),说明方法重复性好。

2.10 回收率实验 采用加样回收法,精密吸取已知量的样品(批号 20100708) 0.5 mL,精密加入原儿茶醛对照品溶液(质量浓度为 0.0246 mg/mL) 和黄芩苷对照品溶液(质量浓度为 4.8438 mg/mL) 各 0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL,按供试品溶液制备方法操作,制成原儿茶醛加样供试品溶液。精密吸取上述滤液 1 mL,按供试品溶液制备方法操作,制成黄

芩苷加样供试品溶液。精密吸取上述加样供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,按上述方法测定加样供试品溶液中原儿茶醛和黄芩苷的量,计算回收率,结果原儿茶醛平均回收率为 100.5%,RSD 为 0.95% ($n = 6$);黄芩苷平均回收率为 100.5%,RSD 为 0.80% ($n = 6$),结果见表 2、3。

表 2 原儿茶醛回收率实验

Tab. 2 Results of recovery test of protocatechuic aldehyde

取样量 /mL	样品中含原儿茶醛量/mg	加入原儿茶醛对照品量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
0.5	0.02549	0.01968	0.04521	100.20		
0.5	0.02549	0.01968	0.04539	101.12		
0.5	0.02549	0.02460	0.05035	101.06	100.5	0.95
0.5	0.02549	0.02460	0.05045	101.46		
0.5	0.02549	0.02952	0.05467	98.85		
0.5	0.02549	0.02952	0.05504	100.10		

表 3 黄芩苷回收率实验

Tab. 3 Results of recovery test of baicalin

取样量 /mL	样品含黄芩苷量/mg	加入黄芩苷对照品量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
0.5	5.0700	3.87504	8.99955	101.41		
0.5	5.0700	3.87504	8.94160	99.91		
0.5	5.0700	4.84380	9.92315	100.19	100.5	0.80
0.5	5.0700	4.84380	9.99030	101.58		
0.5	5.0700	5.81256	10.91570	100.57		
0.5	5.0700	5.81256	10.85880	99.59		

2.11 样品测定 按 2.2 项和 2.3 项制备成供试品溶液和对照品溶液,精密吸取供试品溶液及对照品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,依法测定,以外标法两点法计算原儿茶醛和黄芩苷的量,即得。结果样品批号为 20100708、20100904、20101118 中原儿茶醛的质量浓度分别为 50.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、47.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、30.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$;黄芩苷的质量浓度分别为 10.14 mg/mL、9.41 mg/mL、8.60 mg/mL,具体见表 4。

表 4 样品测定结果 ($n = 3$)

Tab. 4 Determination results of sample ($n = 3$)

批号	原儿茶醛 /($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD /%	黄芩苷 /(mg/mL)	RSD /%
20100708	50.98	0.15	10.14	0.44
20100904	47.65	0.77	9.41	0.54
20101118	30.52	0.63	8.60	0.72

3 讨论

3.1 检测波长的选择 因为是在一个系统中同时检测原儿茶醛和黄芩苷,所以找到他们共同的最大吸收波长尤为重要,取上述两种对照品加 50% 甲醇

溶液于紫外扫描仪上绘制紫外吸收光谱,波长范围200~400 nm,结果原儿茶醛和黄芩苷均在(280±2) nm有最大吸收波长。

3.2 供试品提取方法的确定 在供试品的提取中,分别采取超声(20 min、30 min和60 min)、乙醚振摇提取^[6](3、4、5次)和加热回流(30 min、60 min、120 min)3种方法进行试验,结果发现原儿茶醛在超声30 min提取测得量最高,黄芩苷在上述各种提取方法中测定量结果相差不大,故选用超声30 min作为本实验供试品提取方法。

3.3 流动相比比例确认 通过文献查找,发现测定原儿茶醛的流动相甲醇-1%冰醋酸(13:87)较多,而测定黄芩苷的流动相甲醇-1%冰醋酸(45:55)较多,两者流动相比比例相差较大,本实验曾用甲醇-1%冰醋酸不同比例等度进行调节测试,均不能满意同时检测到两种成分,后经摸索采用梯度洗脱调节流动相比比例能得到很好的峰形,分离完全,杂峰干扰少,理论塔板数高达10 000多。

3.4 丹参测定成分的选择 丹参有效成分较多,可分为脂溶性和水溶性两部分。脂溶性成分主要为丹参酮II_A,水溶性成分包括丹酚酸B、丹参素、原儿茶醛等。本制剂的制法是水煎法,脂溶性成分丹参酮II_A量很低,难以检测。同时由于中药复方中成分复杂,在实验条件下,水溶性成分丹酚酸B、丹参素与相邻峰不能分离,不符合定量测定要求。因此,本实验选择参考《中国药典》2010版丹红化瘰口服液的含量测定项,选择丹参有效成分原儿茶醛为测定指标成分。

3.5 测定方法 样品定量测定中每批所含的原儿

茶醛和黄芩苷的量各不相同,可能是每批所用原药材含量不同所致,因此很有必要对原儿茶醛和黄芩苷的量作相应的控制。本方为复方制剂,药味虽不多,但成分复杂,经多次试验,结果表明本方法的色谱条件柱效最高,分离度大,精密度高,重复性好,无干扰,且配制简单,能有效地控制该制剂的内在质量。

参考文献:

- [1] SYZ-ZF-003-2004. 上海市食品药品监督管理局医疗机构制剂质量标准[S].
- [2] 卫生部颁药品标准:中药成方制剂第十七册[S]. 1998:174.
- [3] 吕文海,谭鹏,宋磊,等. 山东临沂不同加工方法丹参饮片中原儿茶醛含量测定[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(21): 1825-1826.
- [4] 汲臣杰,李雪松. HPLC法测定丹参口服液中原儿茶醛的含量[J]. 黑龙江医药, 2006, 19(5): 336-337.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:579.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:611.
- [7] 国家药品标准(新药转正标准)中药第39册[S]. 15.
- [8] 马家燕. 对不同品种,不同产地丹参药材中原儿茶醛及丹参素含量的比较分析[J]. 中国乡村医药, 2000, 7(11): 28-29.
- [9] 张玲莉,彭燕,涂毅. 高效液相色谱法测定黄芩口服液中黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2005(5): 388-389.
- [10] 张玲,徐新刚. 9种含丹参中成药中原儿茶醛的含量测定[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(4): 253-255.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:401.
- [12] 徐德然,王康才,王峥涛,等. 丹参中丹参素、原儿茶醛来源的初步研究[J]. 中国天然药物, 2005, 3(3): 148-150.

HPLC法测定活血胶囊中羟基红花黄色素A、柚皮苷

毛阿娟¹, 王晓雯², 王世祥¹, 彭宁², 张亚军¹, 郑晓晖¹, 刘勤社^{1,2*}

(1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2. 陕西省人民医院, 陕西 西安 710068)

摘要:目的 建立活血胶囊(黄芪、红花、桃仁、枳壳、川芎、当归、赤芍、酸枣仁等)中羟基红花黄色素A和柚皮苷测定方法。方法 色谱柱 Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-0.2% 甲酸水(羟基红花黄色素A 20:80, 柚皮苷 33:67) 检测波长 羟基红花黄色素A 403 nm, 柚皮苷 283 nm, 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 25℃。结果

收稿日期:2011-05-05

基金项目:陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项(2009ZDKG-85); 陕西省自然科学基金(2010JM4047)

作者简介:毛阿娟(1985—)女,硕士生,从事中药物质基础研究。Tel:(029) 88302686

* 通信作者:刘勤社(1963—)男,教授,从事中西医结合研究。Tel:(029) 85251331-3223, E-mail: lqsspph@126.com