

# HPLC测定清热解毒口服液中绿原酸与黄芩苷含量

王媛<sup>1</sup>, 范全民<sup>2</sup> (1. 河南省药品审评认证中心, 郑州 450004; 2. 济源市食品药品检验所, 济源 454650)

**摘要 目的:** 建立高效液相色谱法同时测定清热解毒口服液中绿原酸和黄芩苷的含量方法。**方法:** 采用 VP-ODS C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2% 磷酸溶液, 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长为 324 nm, 柱温: 38 °C。**结果:** 绿原酸在 14.0~56.0 mg · L<sup>-1</sup> 范围内呈良好的线性关系; 平均回收率为 98.2%, RSD=1.1% (n=6); 黄芩苷在 51.2~204.8 mg · L<sup>-1</sup> 范围内呈良好的线性关系; 平均回收率为 98.4%, RSD=1.3% (n=6)。**结论:** 所建方法简便、准确、重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** HPLC; 清热解毒口服液; 绿原酸; 黄芩苷

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2011)-1-35-3

## Determination of Chlorogenic Acid and Baicalin in Qingre Jiedu Oral Liquid by HPLC

Wang Yuan<sup>1</sup>, Fan Quanmin<sup>2</sup> (1. Center for Drug Certification and Evaluation of Henan, Zhengzhou 450004; Jiyuan Institute for Food and Drug Control, Jiyuan 454650)

**Abstract Objective** To establish an HPLC method for the determination of Chlorogenic Acid and Baicalin in Qingre Jiedu Oral Liquid. **Methods** The determination was performed by HPLC of VP-ODS C<sub>18</sub> Column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), with mobile phase consisting of methanol and 0.2% phosphoric acid, flow rate at 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, detection wavelength at 324 nm. **Result** The linear relationship was good. For chlorogenic acid, the regression equation was  $Y = 4.64 \times 10^{-5}X - 3.93 \times 10^{-2}$ ,  $r = 0.9999$ , the linear range was within 14.0~56.0 mg · L<sup>-1</sup>. The average recovery was 98.2% with RSD 1.1%; For Baicalin, the regression equation was  $Y = 5.47 \times 10^{-5}X - 6.62 \times 10^{-2}$ ,  $r = 0.9999$ , the linear range was within 51.2~204.8 mg · L<sup>-1</sup>. The average recovery was 98.4% with RSD 1.3%. **Conclusion** The method is simple, accurate and with a good reproducibility and can be used for the quality control of the Oral Liquid.

**Key Words** Qingre Jiedu Oral Liquid; HPLC; Chlorogenic acid; Baicalin

清热解毒口服液是由黄芩、金银花等十二味中药组成, 具有清热解毒之功效。用于热毒壅盛所致的发热面赤、烦躁口渴、咽喉肿痛; 流感、上呼吸道感染见上述症候者<sup>[1]</sup>。现行质量标准中仅对黄芩苷定有含量测定项目; 方中金银花具有清热解毒、凉散风热之功效<sup>[2]</sup>, 也为方中主要成分之一, 绿原酸为金银花中主要活性成分, 以其为定量监控指标可有效地控制产品的质量。本试验采用 HPLC 法同时测定其中绿原酸和黄芩苷的含量, 多成分评价清热解毒口服液质量, 为综合评定本制剂提供了试验依据。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-2010C HT 型高效液相色谱仪, LC solution 色谱工作站, 自动进样器; VP-ODS C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); SK250LHC 型超声波清洗机 (上海科导超声仪器有限公司, 功率 300W, 频

率: 33/50 KHz); 电子分析天平 (德国 SM-202A-DR)。

甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心出品); 水为重蒸馏水; 其它试剂均为色谱纯; 绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110753-200413); 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110715-200514); 清热解毒口服液 (Y1 生产, 批号 20090601; Y2 生产, 批号 20090301; Y4 生产, 批号 090514; Y5 生产, 批号 080822; Y6 生产, 批号 20080111)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: VP-ODS C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (A-B), 梯度洗脱方法: 0~15 min A-B (14: 86 → 53: 47) 线性梯度洗脱; 15~25 min A-B (53: 47 → 86: 14) 线性梯度洗脱;

流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 检测波长为  $324 \text{ nm}$ ; 进样量  $10 \mu\text{L}$ ; 柱温:  $38 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

## 2.2 混合对照品储备液的制备

分别精密称取绿原酸和黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成混合对照品溶液, 绿原酸浓度为  $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 黄芩苷浓度为  $128 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$  以下保存)。

## 2.3 供试品溶液的制备

精密量取本品  $2 \text{ mL}$  于  $25 \text{ mL}$  量瓶中, 加入  $50\%$  甲醇适量, 密塞, 超声提取  $15 \text{ min}$ , 放冷, 用  $50\%$  甲醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液过微孔滤膜 ( $0.45 \mu\text{m}$ ), 即得。

## 2.4 阴性对照溶液的制备

按照清热解毒口服液的制造工艺<sup>[1]</sup>, 制备不含金银花、黄芩苷药材的清热解毒口服液模拟。

## 2.5 系统适用性试验

在“2.1”色谱条件下检测, 绿原酸的保留时间为  $8.6 \text{ min}$ , 黄芩苷的保留时间为  $18.0 \text{ min}$ , 达到基线分离。绿原酸、黄芩苷的理论塔板数分别大于  $2000$  和  $9000$ , 阴性供试品溶液不干扰测定 (图 1)。

## 2.6 线性试验

用自动进样器分别按上述色谱条件依次进混合对照品储备液  $4.0 \text{ } \mu\text{L}$ ,  $6.0 \text{ } \mu\text{L}$ ,  $8.0 \text{ } \mu\text{L}$ ,  $10.0 \text{ } \mu\text{L}$ ,  $12.0 \text{ } \mu\text{L}$ ,  $16.0 \text{ } \mu\text{L}$ 。以对照品浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 将所得数据绘成标准曲线, 绿原酸回归方程为:  $Y = 4.64 \times 10^{-5} X - 3.93 \times 10^{-2}$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围  $14.0 \sim 56.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 黄芩苷回归方程为:  $Y = 5.47 \times 10^{-5} X - 6.62 \times 10^{-2}$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围  $51.2 \sim 204.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

## 2.6 精密度试验

吸取上述对照品溶液, 连续进样  $5$  次, 测定峰面积, 结果绿原酸的 RSD 为  $0.86\%$ , 黄芩苷的 RSD 为  $0.55\%$  ( $n = 5$ ), 表明精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取已测含量的供试品溶液, 分别在放置  $0, 2, 4, 6, 8 \text{ hr}$  时进样, 测定含量, 计算其相对标准偏差, 绿原酸的 RSD =  $0.96\%$ , 黄芩苷的 RSD =  $0.58\%$ , 表明稳定性良好。

## 2.8 重复性试验

取同一批号的清热解毒口服液样品  $5$  份, 按“2.3 供试品溶液的制备”进行操作测定, 绿原酸含量为  $0.346 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD =  $0.66\%$ , 黄芩苷含量为  $2.184 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD =  $0.78\%$ 。

## 2.9 加样回收率实验

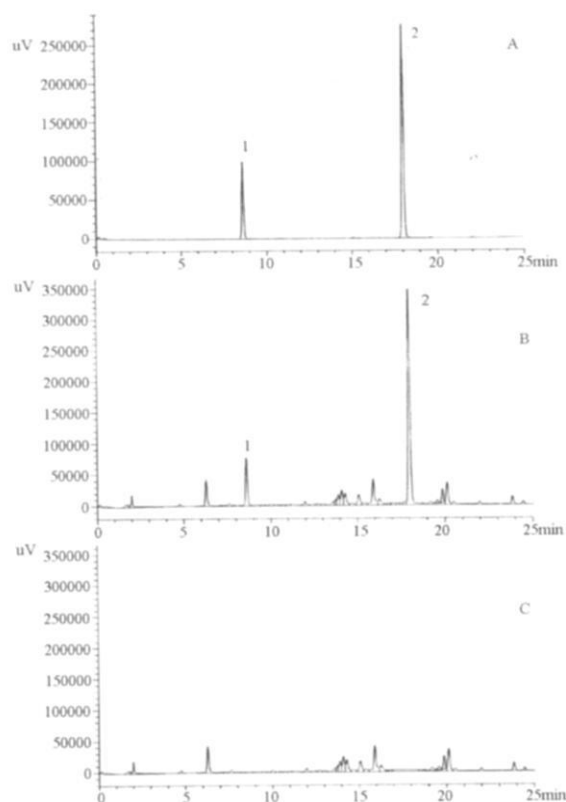


图 1 清热解毒口服液 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1 绿原酸; 2 黄芩苷

精密量取已知含量的样品 (批号: 20090301)  $6$  份, 每份  $1 \text{ mL}$ , 分别精密加入绿原酸黄芩苷混合对照品溶液适量, 按供试品溶液制备法制备, 并按以上色谱条件测定, 计算回收率, 结果绿原酸平均回收率为  $98.2\%$ , RSD 为  $1.1\%$ , 黄芩苷平均回收率为  $98.4\%$ , RSD 为  $1.3\%$ 。

## 2.10 样品分析

按上述测定方法对  $5$  批不同批号的样品中绿原酸和黄芩苷进行了测定, 结果见表 2。

## 3 讨论

**3.1** 绿原酸在  $327 \text{ nm}$  波长处有最大吸收, 黄芩苷在  $315 \text{ nm}$  附近有一强吸收。在  $327 \sim 324 \text{ nm}$  间, 选择  $324 \text{ nm}$  作为检测波长。

**3.2** 在供试品制备中, 对提取溶剂 (甲醇、 $50\%$  甲醇)、超声时间 ( $10, 20, 30 \text{ min}$ ) 进行了考察, 结果无明显差别, 故确定用  $50\%$  甲醇, 超声处理  $15 \text{ min}$  提取。

**3.3** 本实验测定了  $5$  个不同厂家的清热解毒口服液, 结果显示, 不同厂家生产的样品中绿原酸和黄芩苷含量相差较大。

**3.4** 有报道绿原酸见光见热不稳定, 因而实验

中绿原酸对照品和样品均应采用棕色量瓶放置, 低温保存<sup>[3]</sup>。

表 1 绿原酸和黄芩苷回收率实验结果

| 组分  | 样品取样量 /mL | 样品中含量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均回收率 /% | RSD /% |
|-----|-----------|-----------|---------|---------|--------|----------|--------|
| 绿原酸 | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.688   | 97.7   | 98.2     | 1.1    |
|     | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.691   | 98.6   |          |        |
|     | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.685   | 96.7   |          |        |
|     | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.694   | 99.4   |          |        |
|     | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.693   | 99.1   |          |        |
|     | 1         | 0.346     | 0.350   | 0.686   | 97.4   |          |        |
| 黄芩苷 | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.423   | 96.8   | 98.4     | 1.3    |
|     | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.451   | 99.0   |          |        |
|     | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.446   | 98.6   |          |        |
|     | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.428   | 97.2   |          |        |
|     | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.461   | 99.8   |          |        |
|     | 1         | 2.184     | 1.280   | 3.455   | 99.3   |          |        |

表 2 样品含量测定结果 ( $n=3$ )

| 样品批号 No  | 绿原酸 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 黄芩苷 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 20090601 | 0.113                                 | 1.844                                 |
| 20090301 | 0.346                                 | 2.184                                 |
| 090514   | 0.278                                 | 1.856                                 |
| 080822   | 0.212                                 | 3.337                                 |
| 20080111 | 0.185                                 | 2.424                                 |

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》.2005年版.一部[S].2005 619-620
- [2] 国家药典委员会.《中国药典》.2005年版.一部[S].2005 152-153
- [3] 邱华荣,田吉,冯文学,等.青银注射液中绿原酸与樟脑的含量测定[J].中成药,2004 26(8):621-623

## 气相色谱法测定紫金散中麝香酮的含量

汪建君,陈惠玲(厦门市药品检验所,厦门 361012)

**摘要** 目的:建立紫金散中麝香酮含量测定方法。方法:硝基对苯二甲酸改性聚乙二醇毛细管柱(HP-FFAP)(柱长为 25 m,柱内径为 0.2 mm,膜厚度为 0.3  $\mu\text{m}$ ),柱温为程序升温,初始温度 120  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 1 min,以 8  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升至 190  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 5 min,再以 40  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升至 240  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 10 min,进样口温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ,检测器温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,分流比 3:0:1,进样量 1  $\mu\text{L}$ 。结果:麝香酮在 7.12~0.142 4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。平均回收率为 97.1% (RSD = 2.1%)。结论:本方法简便、快速、准确,可用于控制紫金散中人工麝香的含量。

**关键词** 紫金散;麝香酮;气相色谱法

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1009-3656(2011)-1-37-4

## Determination of the Content of Muscone in Zijin Powder by GC

Wang Jian-jun, Chen Huiling (Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012)

**Abstract Objective** To establish a method for the determination of muscone in Zijin Powder. **Method** Chromatographic column

作者简介:汪建君,男,药师。学科及研究方向:中药检验。联系电话:13799849763。