

含量。

表2 小儿清炎合剂中荭草苷的含量

Table 2 Determination of Orientin in <i>Xiaoer Qingyan</i> Mixture	
批号	荭草苷含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
20110601	113.3
20110602	113.0
20110603	120.1

3 讨论

在样品处理过程中, 比较了水饱和的正丁醇萃取和过聚酰胺柱两种方法, 前者容易乳化, 耗时相对后者较长, 故采取过聚酰胺柱处理本次样品。

考察了不同溶剂进行洗脱(水、20 %、40 %、60 %、80 %乙醇), 结果, 采用水、20 %乙醇 25 mL 未能洗脱荭草苷, 60 %乙醇洗脱时, 荭草苷达到最高值, 故样品处理时, 先用水、20 %乙醇 25 mL 洗脱, 弃去, 再用 60 %乙醇洗脱。

考察了 60 %乙醇洗脱量(25, 50, 75 mL), 结果, 用 60 %乙醇 50 mL 能完全洗脱荭草苷, 故样品

处理时, 分别用水、20 %乙醇 25 mL 洗脱, 弃去, 再收集 60 %乙醇洗脱液 50 mL, 即可。

本研究建立了小儿清炎合剂中荭草苷的含量测定方法, 准确、稳定, 重现性好, 可用于小儿清炎合剂的质量控制。

参考文献:

[1] 江西省食品药品监督管理局. 江西省食品药品监督管理局医疗机构制剂的试行标准[S]. GZJ-0053-(1)-2004.

[2] 任冰如. 乌韭的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(1): 20-23.

[3] 罗娅君. 大叶金花草化学成分的研究[J]. 中草药, 2009, 40(2): 190-192.

[4] 蔡建秀. 乌蕨总黄酮及水提液的药理试验[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(1): 13-14.

[5] 苏育才. 蕨类植物乌蕨的研究进展[J]. 生物学教学, 2012, 10(37): 71-72.

[6] 吴晓宁. 乌蕨不同提取物体外抑菌作用比较研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 6(26): 1267-1268.

(编辑: 宋威)

RRLC 法同时测定蒲地蓝消炎胶囊中绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的含量

胡世强, 张 伟, 张永耀(广州市药品检验所, 广东 广州 510160)

摘要: **目的** 建立高分离度快速液相色谱(RRLC)法同时测定蒲地蓝消炎胶囊中绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的方法。**方法** 采用 ZORBAX SB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 1.8 μm), 0.4 %磷酸水溶液-乙腈为流动相的梯度洗脱模式分离各测定组分, 采用可变波长的方式在最大吸收波长处测定相应组分的峰面积并计算样品含量。**结果** 绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素分别在 0.004330~0.4330 μg ($r=0.9999$)、0.01740~1.740 μg ($r=0.9998$)、0.005860~0.5860 μg ($r=0.9998$)及 0.006700~0.6700 μg ($r=0.9999$)范围内具有良好的线性关系; 且平均加样回收率和 RSD 分别为 101.0 %, 2.0 %; 103.1 %, 1.7 %; 100.6 %, 0.6 %; 102.0 %, 0.7 %($n=6$); 重复性试验, 4 个成分含量的 RSD 均小于 2.0 %($n=6$)。**结论** 所建立的方法简便、快速、准确, 具有良好的重复性和稳定性, 可用于蒲地蓝消炎胶囊的质量控制。

关键词: 蒲地蓝消炎胶囊; 绿原酸; 野黄芩苷; 黄芩苷; 黄芩素; 高分离度快速液相色谱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0400-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.020

Simultaneous Determination of Chlorogenic Acid, Scutellarin, Baicalin and Baicalein in *Pudilan Xiaoyan* Capsule by RRLC

HU Shiqiang, ZHANG Wei, ZHANG Yongyao(Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160 Guangdong,

收稿日期: 2013-02-28
作者简介: 胡世强, 男, 主管中药师。研究方向: 中药分析及标准制定。Email: Sainnt@163.com。

China)

Abstract: Objective To establish a simultaneous method to determine the content of chlorogenic acid, scutellarin, baicalin and baicalein in *Pudilan Xiaoyan* Capsule by rapid resolution liquid chromatography (RRLC). **Methods** A ZORBAX SB-C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 1.8 μm) was adopted with a gradient elution mode and a variable detecting wavelength. The mobile phase consisted of 0.4 % phosphoric acid water solution-acetonitrile. Peak area at the maximum wavelength was detected for the simultaneous determination of the components. **Results** Chlorogenic acid, scutellarin, baicalin and baicalein all had good linearity in the ranges of 0.004330~0.4330 μg(*r*=0.9999), 0.01740~1.740 μg(*r*=0.9998), 0.005860~0.5860 μg(*r*=0.9998), 0.006700~0.6700 μg(*r*=0.9999), and the average recoveries were 101.0%(RSD=2.0 %, *n*=6), 103.1 %(RSD=1.7 %, *n*=6), 100.6 %(RSD=0.6 %, *n*=6), 102.0 %(RSD=0.7 %, *n*=6), respectively. Repeatability experiments presented that RSD values of the four components contents were less than 2.0 %. **Conclusion** The established method is simple, rapid and accurate with good repeatability and stability, and is suitable for the quality control of *Pudilan Xiaoyan* Capsule.

Keywords: *Pudilan Xiaoyan* Capsule; Chlorogenic acid; Scutellarin; Baicalin; Baicalein; Rapid resolution liquid chromatography

蒲地蓝消炎胶囊由黄芩、蒲公英、苦地丁和板蓝根 4 味中药组成, 具有清热解毒、抗炎消肿等功效, 主要用于疖肿、腮腺炎、咽炎、淋巴腺炎、扁桃体炎等病症的治疗。目前, 该品种的标准为《国家食品药品监督管理局》标准(试行)YBZ00292005, 该标准中含量测定的控制指标为采用高效液相色谱法测定黄芩苷的含量。另有文献采用 HPLC 法同时测定该制剂 1~2 个成分^[1-2], 用 RRLC 法同时测定蒲地蓝消炎胶囊 4 种主要有效成分绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的研究尚未见报道。为了更加有效地控制蒲地蓝消炎胶囊的质量, 本研究拟建立高分离度快速液相色谱(RRLC)法, 同时测定蒲地蓝消炎胶囊中绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素 4 个有效成分含量的方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent1200 型高分离度快速液相色谱仪(RRLC), 包括 G1322A 在线脱气机、G1312B-SL 型二元高压泵、G1367C-SL 型自动进样器、G1316B-SL 型柱恒温箱以及 G1314-SL 型检测器, 德国安捷伦公司; METTLER TOLEDO AG245 型电子分析天平, METTLER TOLEDO XP26 型电子分析天平, 瑞士梅特勒公司; BRANSON B5510E-MT 型超声仪, 美国必能信公司。

1.2 试药 蒲地蓝消炎胶囊, 广东心宝制药有限公司, 批号: 20110401, 20110501, 20120501; 绿原酸对照品(批号: 110753-200413), 野黄芩苷对照

品(批号: 111720-200603), 黄芩苷对照品(批号: 110715-201117, 纯度 91.7 %), 黄芩素对照品(批号: 111595-200905), 中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 甲醇和磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 系统适用性 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.4 %磷酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱条件见表 1; 检测波长, 采用可变波长分别测定绿原酸(327 nm)、野黄芩苷(335 nm)、黄芩苷(280 nm)、黄芩素(276 nm), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温: 35 ℃; 进样体积各 2 μL。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

Table 1 HPLC gradient elution mode conditions		
时间/min	0.4 %磷酸水溶液(A)/%	乙腈(B)/%
0~6	90	10
6~20	81	19
20~30	70	30
30~40	90	10

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品储备液 取经五氧化二磷减压干燥 12 h 以上的对照品, 包括绿原酸 2.2 mg、野黄芩苷 8.5 mg、黄芩苷 3.0 mg、黄芩素 3.3 mg, 精密称定, 加流动相制成浓度分别为绿原酸 216.5 μg·mL⁻¹、野黄芩苷 871.2 μg·mL⁻¹、黄芩苷 293.0 μg·mL⁻¹、黄芩素 335.0 μg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.2.2 混合对照品溶液 精密吸取 2.2.1 项下的混合对照品储备液 1 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 即得。

2.2.3 供试品溶液 取本品, 研细, 取约 0.4 g, 精密称定, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加 50 % 甲醇 40 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 加 50 % 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照品溶液 分别按处方工艺制备不含蒲公英、黄芩的阴性样品, 按照 2.2.3 项下方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察和样品测定

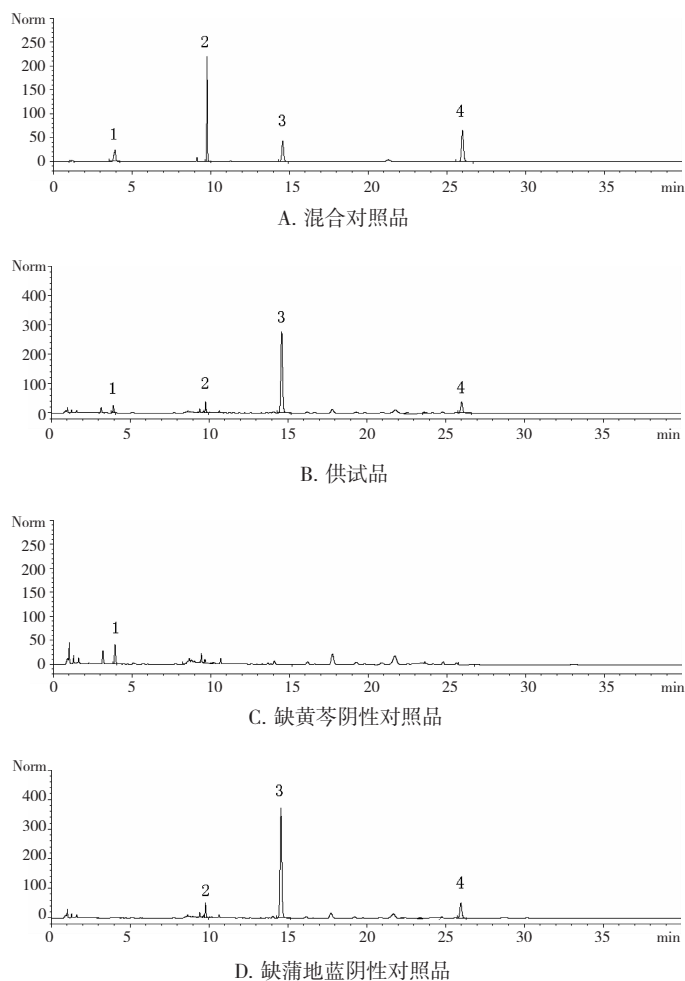
2.3.1 系统适用性及专属性考察 分别吸取上述混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 2 μ L, 按 2.1 项下色谱条件进行检测, 记录色谱图。结果, 供试品中绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素均与杂质峰完全分离, 且它们的理论板数均不低 6000, 且阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取 2.2.1 项下的混合对照品储备液 6 份每份 1.00 mL, 分别置于 100, 20, 10, 5, 2, 1 mL 棕色量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 注入液相色谱仪, 按 2.1 项下色谱条件测定, 记录色谱峰峰面积。以进样量(X , ng)为横坐标, 以峰面积(Y)为纵坐标, 得绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的回归方程分别为 $Y=5.4001 \times 10^{-7}X-7.046 \times 10^{-7}(r=0.9999)$ 、 $Y=6.8198 \times 10^{-7}X-1.7402 \times 10^{-5}(r=0.9998)$ 、 $Y=4.3121 \times 10^{-7}X-1.1857 \times 10^{-6}(r=0.9998)$ 和 $Y=2.9612 \times 10^{-7}X-1.0926 \times 10^{-5}(r=0.9999)$ 。结果表明, 绿原酸在 0.00433~0.433 μ g, 野黄芩苷在 0.0174~1.74 μ g, 黄芩苷在 0.00586~0.586 μ g, 黄芩素在 0.00670~0.670 μ g 范围内均呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积。结果, 绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的 RSD 分别为 1.9 %、1.3 %、1.4 % 及 0.9 %。表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 分别于 0, 2, 5, 10, 15, 24 h 进样 2 μ L, 记录峰面积。结果绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的 RSD 分别为 1.5 %、1.4 %、1.2 % 及 0.9 %。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 取供试品(批号: 20120501)适量, 研细, 按照 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样测定。结果, 绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的平均含量分别为 5.41, 2.33, 25.93,



1. 绿原酸; 2. 野黄芩苷; 3. 黄芩苷; 4. 黄芩素

图 1 蒲地蓝消炎胶囊中绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的色谱图

Figure 1 RRILC results of reference substances(A), Pudilanxi-aoyan Capsule (B), negative sample of lacking of Scutellaria baicalensis(C), negative sample of lacking of Dandelion(D)

3.21 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.9 %、1.8 %、1.5 % 和 1.0 % ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取同一批样品 6 份(批号: 2012 0501), 每份约 0.2 g, 置 50 mL 棕色量瓶中, 分别精密加入含绿原酸 1.101 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 野黄芩苷 0.502 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 黄芩苷 5.216 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和黄芩素 0.652 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合溶液各 1.00 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算回收率。结果, 绿原酸平均回收率为 101.0 %, RSD 为 2.0 %; 野黄芩苷平均回收率为 103.1 %, RSD 为 1.7 %; 黄芩苷的平均回收率为 100.6 %, RSD 为 0.6 %; 黄芩素的平均回收率为 102.0 %, RSD 为 0.7 %。表明该方法回收率良好。结果见表 2。

表 2 绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素加样回收试验结果 (n=6)

Table 2 Recovery test results of Chlorogenic Acid, Sculellarin, Baicalin and Baicalein

	取样量	样品含	加入量	测定值	回收率	平均回	RSD
	/g	量 /mg	/mg	/mg	/ %	收率 / %	/ %
绿原酸	0.2012	1.088	1.101	2.204	101.4	101.0	2.0
	0.2003	1.083	1.101	2.200	101.5		
	0.2025	1.096	1.101	2.210	101.3		
	0.1988	1.076	1.101	2.153	97.81		
	0.1996	1.080	1.101	2.225	104.1		
野黄芩苷	0.2056	1.112	1.101	2.214	100.1		
	0.2012	0.4688	0.502	0.9853	103.1	103.1	1.7
	0.2003	0.4667	0.502	0.9811	102.7		
	0.2025	0.4718	0.502	0.9904	103.5		
	0.1988	0.4632	0.502	0.9953	106.5		
黄芩苷	0.1996	0.4651	0.502	0.9655	99.66		
	0.2056	0.4790	0.502	0.9959	103.1		
	0.2012	5.217	5.216	10.41	99.461	100.6	0.6
	0.2003	5.194	5.216	10.45	100.8		
	0.2025	5.251	5.216	10.49	100.4		
黄芩素	0.1988	5.155	5.216	10.46	101.8		
	0.1996	5.176	5.216	10.50	102.0		
	0.2056	5.331	5.216	10.51	99.27		
	0.2012	0.6459	0.652	1.315	102.7	102.0	0.7
	0.2003	0.6430	0.652	1.279	97.52		
黄芩素	0.2025	0.6500	0.652	1.333	104.8		
	0.1988	0.6381	0.652	1.296	101.0		
	0.1996	0.6407	0.652	1.285	98.80		
	0.2056	0.6560	0.652	1.359	107.1		

表 3 样品含量测定结果 (n=3, mg·g⁻¹)

Table 3 Contents of Chlorogenic Acid, Sculellarin, Baicalin and Baicalein in PudilanXiaoyan Capsule

批号	绿原酸	野黄芩苷	黄芩苷	黄芩素
20110401	4.06	2.82	30.52	2.88
20110501	4.87	1.93	34.29	2.76
20120501	5.41	2.33	25.93	3.21

2.3.7 样品测定 取本品，研细，按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进行测定，用标准曲线法以峰面积计算样品中各测定成分的含量，结果见表 3。

3 讨论

中药材及中成药的质量评价是中医药走向世界的关键问题之一。《中国药典》多采用高效液相色谱法测定处方中某味药材的主要成分含量^[3]，质量评价覆

盖面小，应逐渐增加中药复方制剂的多成分测定^[4-6]。本研究在改变测定波长的条件下，采用高分离度快速液相色谱法同时测定了其中的绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素 4 种有效成分，操作简便易行，结果准确可靠，为蒲地蓝消炎胶囊的质量控制提供了有效的手段。

试验曾尝试用大孔树脂柱分离纯化供试品，收集 50 mL 甲醇洗脱液，进行含量测定，发现所得的绿原酸、野黄芩苷、黄芩苷和黄芩素的含量明显低于本法制备的供试品溶液，所以，选取加入甲醇直接超声的方式制备供试品溶液。

因待测定组分绿原酸呈显弱酸性，所以，选择有机相 - 酸水溶液做流动相，当选择甲醇(A)- 醋酸水溶液(B)作流动相时，由于甲醇的黏度较大，在改变洗脱梯度时，整个系统的压力会明显升高，且基线波动较大；而选择乙腈(A)- 醋酸水溶液(B)作流动相时，基线波动较大，对测定含量有时产生影响；最后，选择乙腈(A)- 磷酸水溶液(B)作流动相时，得到了较满意的色谱图，经过比较，发现采用乙腈(A)-0.4 %的磷酸溶液(B)作流动相，并按本文的梯度比例洗脱时，色谱图的分离效果理想，保留时间适宜。

本研究还同时在必有色谱条件下摸索了板蓝根中的腺苷的测定条件，结果，在必有的色谱条件下，腺苷的色谱峰达不到定量要求，故没有将腺苷纳入到此测定方法。

参考文献：

[1] Wu X. Determination of Chlorogenic acid and Caffeic acid in Pudilan-Xiaoyan Capsules[J]. Guiding Journal of TCM, 2008, 14(9): 75-76.

[2] Lin ZS. Determination of Baicalin content in Pudilan-Xiaoyan Capsules [J]. Traditional Chinese drug Research & Clinical Pharmacology, 2009, 20(3): 269-270.

[3] 陆益, 黎远冬, 梁宁生, 等. 高效液相色谱法测定蒲地蓝消炎片中黄芩苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(11): 1442-1443.

[4] 邵礼梅, 李延雪, 王云龙. 高效液相色谱法测定蒲地蓝消炎片中咖啡酸、绿原酸的含量[J]. 中国医药导报, 2011, 8(15): 72-73.

[5] 邵礼梅, 王云龙, 李延雪. 高效液相色谱法测定蒲地蓝消炎片中黄芩苷、黄芩素的含量[J]. 中国药业, 2012, 21(4): 37-38.

[6] 刘德胜, 吕青志, 张晓帆, 等. HPLC 法对不同蒲地蓝消炎制剂中绿原酸和咖啡酸含量的测定[J]. 滨州医学院学报, 2012, 35(1): 51-54.

(编辑：宋威)