

· 研究报告 ·

HPLC法同时测定复方金银花颗粒中10种成分的含量

何悦^{1,2}, 王四旺², 肖会敏^{2,3} (1. 陕西康城药业股份有限公司, 陕西 商洛 726000; 2. 空军军医大学中药和天然药物学教研室, 陕西 西安 710032; 3. 陕西含光生物科技有限公司, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的 建立 HPLC 法同时测定复方金银花颗粒中 10 种成分(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)含量的方法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱; 流速: 0.8 ml/min; 检测波长: 320 nm; 柱温: 35℃; 进样量: 10 μl。结果 在上述色谱条件下, 10 个成分的峰具有良好的分离度; 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的线性范围分别为 10.20~340.06、7.19~239.81、6.12~203.84、15.00~500.00、20.16~671.85、25.19~839.67、14.61~487.14、10.52~350.66、7.32~244.01、7.61~253.82 μg/ml; 10 个对照品的平均加样回收率均在 97.67%~99.00% 之间, RSD 均在 0.94%~1.37% 之间; 10 批制剂中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均含量分别为 0.579 0、1.523 5、1.080 9、0.083 1、0.468 0、0.739 6、1.977 9、0.351 5、0.246 8、0.256 6 mg/g。结论 该含量测定方法简便、稳定可靠、准确, 可作为复方金银花颗粒质量评价的方法。

[关键词] 复方金银花颗粒; 高效液相色谱; 新绿原酸; 隐绿原酸; 绿原酸; 连翘酯苷 A; 连翘酯苷 B; 黄芩苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)02-0177-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.016

Simultaneous assay of 10 active components in compound Jinyinhua granules by HPLC

HE Yue^{1,2}, WANG Siwang², XIAO Huimin^{2,3} (1. Shaanxi Kang Cheng Pharmaceutical Limited by Share Ltd, Shangluo 726000, China; 2. Department of Chinese Materia Medica and Natural Medicines, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Shaanxi Light Biological Technology Co., Ltd. Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective** To establish an one step assay method for 10 active components (neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, forsythoside B, forsythoside A, baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin) in compound Jinyinhua granules. **Methods** The Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with the column temperature at 35 °C and PDA detection wavelength at 320 nm. A gradient elution with acetonitrile-0.1% phosphoric acid was adopted at the flow rate of 0.8 ml/min. The injection volume was 10 μl. **Results** The good resolution was achieved for the 10 active components. The linear ranges of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, forsythoside B, forsythoside A, baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin were 10.20-340.06, 7.19-239.81, 6.12-203.84, 15.00-500.00, 20.16-671.85, 25.19-839.67, 14.61-487.14, 10.52-350.66, 7.32-244.01, 7.61-253.82 μg/ml respectively. The average recoveries (n=6) were between 97.67% and 99.00% and RSDs between 0.94% and 1.37%. The average contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, forsythoside B, forsythoside A, baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin from 10 batches of preparations were 0.579 0, 1.523 5, 1.080 9, 0.083 1, 0.468 0, 0.739 6, 1.977 9, 0.351 5, 0.246 8 and 0.256 6 mg/g. **Conclusion** This simple and accurate method can be used as one of quality control methods for the compound Jinyinhua granules.

[Key words] compound Jinyinhua granule; HPLC; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; chlorogenic acid; forsythoside A; forsythoside B; baicalin

[作者简介] 何悦, 本科, 药师, Tel: (029)84772165, Email: hyy_8710@163.com

[通讯作者] 肖会敏, 博士, 副主任药师, 研究方向: 中药、天然药物新药研发, Tel: (029)84772165, Email: xhm_0908@163.com

复方金银花颗粒由金银花、黄芩、连翘三味中药组成, 具有清热解毒, 凉血消肿之功效, 用于风热感冒、咽炎、扁桃体炎、目痛、牙痛及痈肿疮疖等。方中金银花主要活性成分含有新绿原酸、绿原酸、隐绿原

酸、咖啡酸等,具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗氧化等作用^[1-7]。连翘所含有效成分连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连翘苷等,具有抗菌、抗病毒等作用^[8-11]。黄芩主要有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等,具有抗肿瘤、神经保护、心血管保护、降血糖等作用^[12-21]。本处方由水提及醇沉等工艺制成。为分析该方中的功效成分,经文献检索未发现采用 HPLC 法同时测定制剂中 10 个成分即新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的研究报道,现报告如下。

1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪(型号 Prominence UFLC,配有 SPD-M20A 二极管阵列检测器,LC/Labsoluion 色谱工作站,日本岛津公司);十万分之一电子分析天平(型号 MS105DU,梅特勒公司);KQ-100DA 台式数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。乙腈、甲醇(色谱级,美国 Fisher 公司);水为自制超纯水;其余为分析纯。绿原酸(批号:110753-201716,纯度 99.3%)、咖啡酸(批号:110885-201703,纯度 99.7%)、连翘酯苷 A(批号:111810-201606,纯度 93.4%)、连翘酯苷 B(批号:111811-201603,纯度 96.6%)、黄芩苷(批号:110715-201720,纯度 93.5%)、汉黄芩苷(批号:112002-201702,纯度 98.5%)、黄芩素(批号:111595-201306,纯度 97.8%)等对照品均购自中国药品生物制品检定研究院;新绿原酸(批号:MUST-10091501,纯度 98.0%)、隐绿原酸(纯度 98.0%)、汉黄芩素(批号:B20489,纯度 98.0%)等购自上海源叶生物科技有限公司;复方金银花颗粒(规格:10 g×10 袋/盒,批号:1804503~1804512,哈药集团世一堂制药厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱,0~18 min, 5% A→20% A; 18~42 min, 20% A→35% A; 42~75 min, 35% A→50% A; 75~90 min, 50% A→100% A。记录时间为 90 min。体积流量:0.8 ml/min;柱温:35℃;检测波长:320 nm;进样量:10 μl。

2.2 混合对照品溶液的配制

分别精密称取新绿原酸 6.94 mg、绿原酸 4.83 mg、隐绿原酸 4.16 mg、咖啡酸 10.03 mg、连翘酯苷 B 13.91 mg、连翘酯苷 A 17.98 mg、黄芩苷 10.42 mg、汉黄芩苷 7.12 mg、黄芩素 4.99 mg、汉黄芩素 5.18 mg 置于 20 ml 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,即得混合对照溶液,作为储备液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 3 袋内容物,研细,混匀,取 10 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入 50% 甲醇 50 ml 溶解,称定重量,超声处理 30 min,取出,放冷,再称定重量,用 50% 的甲醇补足其减失的重量,摇匀,0.22 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液得到供试品溶液。

2.4 线性关系的考察

分别精密量取混合对照溶液 0.06、0.08、0.10、0.20、0.40 ml 和 2.00 ml 置于各个 2 ml 量瓶中,分别加甲醇定容,混匀,即得系列混合对照溶液 1、2、3、4、5、6。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样。以各对照品的浓度(μg/ml)为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,进行线性回归。线性方程、线性范围及相关系数 r²见表 1。结果表明,10 种对照品在相应浓度范围内线性关系良好。

表 1 对照品的线性方程、浓度范围及相关系数

| 序号 | 对照品名称 | 线性范围(ρ _B /μg·ml ⁻¹) | 线性方程 | r ² |
|----|--------|--|------------------------|----------------|
| 1 | 新绿原酸 | 10.20~340.06 | Y=21 960.3 X-19 311.6 | 0.999 8 |
| 2 | 绿原酸 | 7.19~239.81 | Y=12 373.1X-27 093.65 | 0.999 3 |
| 3 | 隐绿原酸 | 6.12~203.84 | Y=12 353.3X-16 868.5 | 0.999 8 |
| 4 | 咖啡酸 | 15.00~500.00 | Y=7 201.1X+11 905 | 0.999 7 |
| 5 | 连翘酯苷 B | 20.16~671.85 | Y=32 873.2 X-192 596.1 | 0.999 8 |
| 6 | 连翘酯苷 A | 25.19~839.67 | Y=32 683.9X-61 392.8 | 0.999 7 |
| 7 | 黄芩苷 | 14.61~487.14 | Y=11 959.9 X-42 938 | 0.999 8 |
| 8 | 汉黄芩苷 | 10.52~350.66 | Y=11 658 X-32 208 | 0.999 4 |
| 9 | 黄芩素 | 7.32~244.01 | Y=11 634.9 X-10 927.6 | 0.999 6 |
| 10 | 汉黄芩素 | 7.61~253.82 | Y=11 951.3 X-10 498.4 | 0.999 6 |

2.5 专属性试验

分别精密量取混合对照溶液、供试品溶液、阴性

对照溶液各 10 μ l 进样,分别记录色谱图。实验结果见图 1,结果表明阴性对照无干扰,方法专属性强。

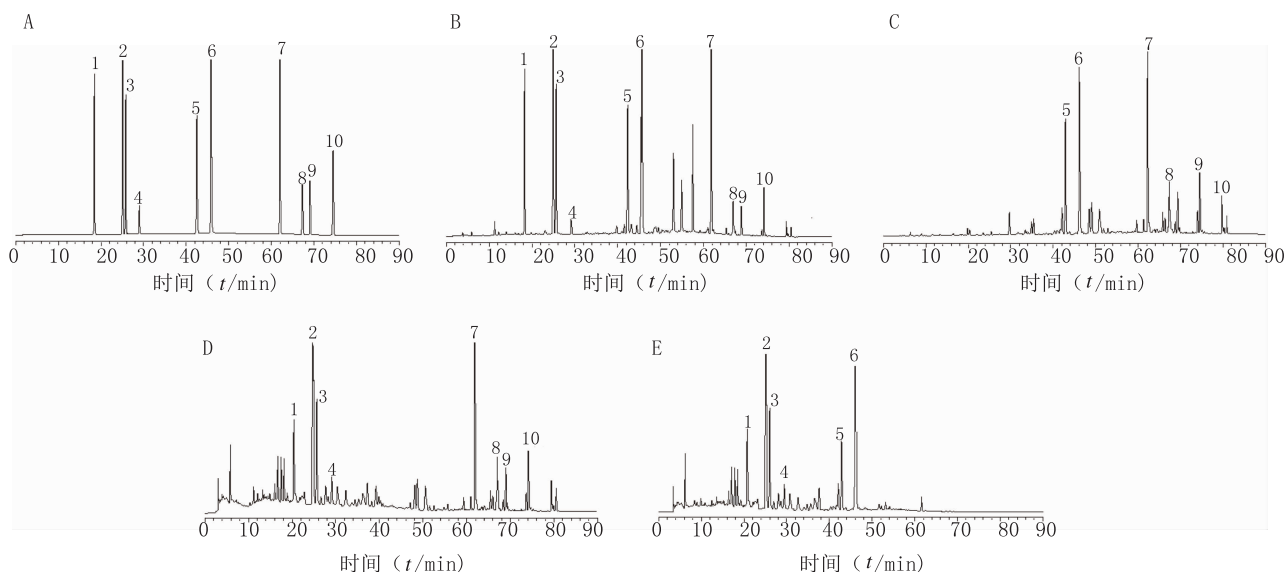


图 1 混合对照品、供试品、阴性对照 HPLC 图

A. 混合对照品;B. 复方金银花颗粒;C. 金银花阴性对照;D. 连翘阴性对照;E. 黄芩阴性对照

1. 新绿原酸;2. 绿原酸;3. 隐绿原酸;4. 咖啡酸;5. 连翘酯苷 A;6. 连翘酯苷 B;7. 黄芩苷;8. 汉黄芩苷;9. 黄芩素;10. 汉黄芩素

2.6 精密度试验

精密吸取上述混合对照溶液 5,重复进样 5 次,结果测得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 A、连翘酯苷 B、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 分别为 1.07%、1.01%、1.02%、1.07%、0.99%、0.72%、0.85%、1.02%、0.91%和 0.85%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取上述混合对照溶液 5,在第 0、2、4、8、12、24 h 进样。结果表明,新绿原酸、绿原酸、隐绿

原酸、咖啡酸、连翘酯苷 B、连翘酯苷 A、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的峰面积的 RSD 分别为 1.12%、1.00%、1.17%、1.02%、1.34%、1.24%、1.19%、1.15%、1.15%和 1.35%,表明该溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

精密称取样品(批号:1804503)6 份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品,按“2.1”项下条件测定。测得平均含量与 RSD 值结果见表 2,表明该方法重复性良好。

表 2 复方金银花颗粒中 10 种成分含量重复性试验(mg/g)

| 次数 | 新绿原酸 | 绿原酸 | 隐绿原酸 | 咖啡酸 | 连翘酯苷 B | 连翘酯苷 A | 黄芩苷 | 汉黄芩苷 | 黄芩素 | 汉黄芩素 |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 0.570 6 | 1.512 1 | 1.070 9 | 0.085 6 | 0.469 8 | 0.739 4 | 1.959 7 | 0.347 7 | 0.249 9 | 0.254 4 |
| 2 | 0.571 2 | 1.535 1 | 1.064 3 | 0.085 1 | 0.462 2 | 0.726 7 | 1.970 4 | 0.348 6 | 0.247 7 | 0.259 3 |
| 3 | 0.566 8 | 1.531 1 | 1.095 3 | 0.083 3 | 0.472 3 | 0.739 1 | 1.966 2 | 0.356 2 | 0.243 9 | 0.257 2 |
| 4 | 0.575 5 | 1.495 9 | 1.068 3 | 0.084 1 | 0.460 9 | 0.754 3 | 1.958 8 | 0.346 2 | 0.244 2 | 0.255 2 |
| 5 | 0.578 8 | 1.505 0 | 1.079 9 | 0.084 2 | 0.469 9 | 0.732 7 | 1.985 1 | 0.344 4 | 0.243 7 | 0.255 8 |
| 6 | 0.562 3 | 1.495 1 | 1.080 2 | 0.085 7 | 0.470 1 | 0.744 5 | 1.959 5 | 0.346 5 | 0.243 6 | 0.253 3 |
| 平均值 | 0.570 9 | 1.512 4 | 1.076 5 | 0.084 7 | 0.467 5 | 0.739 5 | 1.966 6 | 0.348 3 | 0.245 5 | 0.255 9 |
| RSD(%) | 1.04 | 1.15 | 1.04 | 1.13 | 1.02 | 1.29 | 0.52 | 1.19 | 1.09 | 0.84 |

2.9 加样回收率试验

取本品(批号:1804503)3 袋内容物,研细,混匀,取 10 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,添加混合对照品溶液(称取对照品适量,配成每 1 ml 甲醇中含新绿原酸 0.570 mg、绿原酸 1.151 mg、隐绿原酸

1.075 mg、咖啡酸 0.085 mg、连翘酯苷 B 0.467 mg、连翘酯苷 A 0.740 mg、黄芩苷 1.960 mg、汉黄芩苷 0.350 mg、黄芩素 0.250 mg、汉黄芩素 0.260 mg 的混合对照品溶液)8 ml、10 ml 或 12 ml,再按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件

测定,重复制样 6 份,结果见表 3,表明该方法回收率良好。

表 3 复方金银花颗粒加样回收率试验($n=6$)

| 成分名称 | 取样量(m/g) | 原有量(m/mg) | 加入量(m/mg) | 测定量(m/mg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) | RSD(%) |
|--------|----------|-----------|-----------|-----------|--------|----------|--------|
| 新绿原酸 | 9.987 2 | 5.70 | 4.56 | 10.17 | 97.99 | 98.42 | 1.25 |
| | 9.989 5 | 5.70 | 4.56 | 10.17 | 97.96 | | |
| | 9.986 5 | 5.70 | 5.70 | 11.44 | 100.68 | | |
| | 9.988 9 | 5.70 | 5.70 | 11.26 | 97.50 | | |
| | 9.989 1 | 5.70 | 6.84 | 12.47 | 98.94 | | |
| | 9.972 9 | 5.69 | 6.84 | 12.36 | 97.46 | | |
| 绿原酸 | 9.987 2 | 11.51 | 9.21 | 20.55 | 98.16 | 98.47 | 1.03 |
| | 9.989 5 | 11.51 | 9.21 | 20.45 | 97.05 | | |
| | 9.986 5 | 11.51 | 11.51 | 22.98 | 99.67 | | |
| | 9.988 9 | 11.51 | 11.51 | 22.75 | 97.64 | | |
| | 9.989 1 | 11.51 | 13.81 | 25.21 | 99.19 | | |
| | 9.972 9 | 11.49 | 13.81 | 25.18 | 99.11 | | |
| 隐绿原酸 | 9.987 2 | 10.75 | 8.60 | 19.32 | 99.64 | 99.00 | 0.94 |
| | 9.989 5 | 10.75 | 8.60 | 19.30 | 99.38 | | |
| | 9.986 5 | 10.75 | 10.75 | 21.32 | 98.32 | | |
| | 9.988 9 | 10.75 | 10.75 | 21.23 | 97.46 | | |
| | 9.989 1 | 10.75 | 12.90 | 23.56 | 99.28 | | |
| | 9.972 9 | 10.74 | 12.90 | 23.63 | 99.95 | | |
| 咖啡酸 | 9.987 2 | 0.85 | 0.68 | 1.51 | 97.66 | 97.87 | 1.37 |
| | 9.989 5 | 0.85 | 0.68 | 1.50 | 96.16 | | |
| | 9.986 5 | 0.85 | 0.85 | 1.68 | 98.13 | | |
| | 9.988 9 | 0.85 | 0.85 | 1.69 | 99.29 | | |
| | 9.989 1 | 0.85 | 1.02 | 1.86 | 99.40 | | |
| | 9.972 9 | 0.84 | 1.02 | 1.83 | 96.60 | | |
| 连翘酯苷 B | 9.987 2 | 4.67 | 3.74 | 8.38 | 99.22 | 98.40 | 1.02 |
| | 9.989 5 | 4.67 | 3.74 | 8.36 | 98.66 | | |
| | 9.986 5 | 4.67 | 4.67 | 9.31 | 99.39 | | |
| | 9.988 9 | 4.67 | 4.67 | 9.28 | 98.72 | | |
| | 9.989 1 | 4.67 | 5.60 | 10.09 | 96.79 | | |
| | 9.972 9 | 4.66 | 5.60 | 10.13 | 97.64 | | |
| 连翘酯苷 A | 9.987 2 | 7.39 | 5.92 | 13.07 | 96.02 | 97.67 | 1.10 |
| | 9.989 5 | 7.39 | 5.92 | 13.25 | 99.03 | | |
| | 9.986 5 | 7.39 | 7.40 | 14.57 | 97.09 | | |
| | 9.988 9 | 7.39 | 7.40 | 14.65 | 98.15 | | |
| | 9.989 1 | 7.39 | 8.88 | 16.03 | 97.33 | | |
| | 9.972 9 | 7.37 | 8.88 | 16.11 | 98.37 | | |
| 黄芩苷 | 9.987 2 | 19.64 | 15.68 | 35.00 | 97.95 | 98.05 | 1.13 |
| | 9.989 5 | 19.65 | 15.68 | 34.98 | 97.80 | | |
| | 9.986 5 | 19.64 | 19.60 | 38.93 | 98.42 | | |
| | 9.988 9 | 19.64 | 19.60 | 38.88 | 98.14 | | |
| | 9.989 1 | 19.64 | 23.52 | 43.10 | 99.73 | | |
| | 9.972 9 | 19.61 | 23.52 | 42.26 | 96.29 | | |
| 汉黄芩苷 | 9.987 2 | 3.48 | 2.80 | 6.17 | 96.12 | 97.70 | 1.03 |
| | 9.989 5 | 3.48 | 2.80 | 6.23 | 98.24 | | |
| | 9.986 5 | 3.48 | 3.50 | 6.87 | 96.91 | | |

(续表 3)

| 成分名称 | 取样量(m/g) | 原有量(m/mg) | 加入量(m/mg) | 测定量(m/mg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) | RSD(%) |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|--------|----------|--------|
| 黄芩素 | 9.988 9 | 3.48 | 3.50 | 6.92 | 98.31 | 98.33 | 1.10 |
| | 9.989 1 | 3.48 | 4.20 | 7.63 | 98.83 | | |
| | 9.972 9 | 3.47 | 4.20 | 7.58 | 97.77 | | |
| | 9.987 2 | 2.45 | 2.00 | 4.39 | 96.91 | | |
| | 9.989 5 | 2.45 | 2.00 | 4.41 | 97.88 | | |
| | 9.986 5 | 2.45 | 2.50 | 4.89 | 97.53 | | |
| | 9.988 9 | 2.45 | 2.50 | 4.92 | 98.71 | | |
| 汉黄芩素 | 9.989 1 | 2.45 | 3.00 | 5.43 | 99.26 | 97.80 | 1.03 |
| | 9.972 9 | 2.45 | 3.00 | 5.44 | 99.72 | | |
| | 9.987 2 | 2.56 | 2.08 | 4.61 | 98.76 | | |
| | 9.989 5 | 2.56 | 2.08 | 4.60 | 98.25 | | |
| | 9.986 5 | 2.56 | 2.60 | 5.12 | 98.63 | | |
| | 9.988 9 | 2.56 | 2.60 | 5.10 | 97.84 | | |
| | 9.989 1 | 2.56 | 3.12 | 5.59 | 97.24 | | |
| 9.972 9 | 2.55 | 3.12 | 5.55 | 96.09 | | | |

2.10 含量测定

精密称取 10 批样品,分别按“2.3”项下方法制备供试品,按“2.1”项下条件测定。新绿原酸、绿原

酸、隐绿原酸、咖啡酸、翘酯苷 B、连翘酯苷 A、连黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均含量(mg/g,10 g/袋)见表 4。

表 4 复方金银花颗粒中 10 种成分含量测定结果(mg/g)

| 批号 | 新绿原酸 | 绿原酸 | 隐绿原酸 | 咖啡酸 | 连翘酯苷 B | 连翘酯苷 A | 黄芩苷 | 汉黄芩苷 | 黄芩素 | 汉黄芩素 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1804503 | 0.570 9 | 1.512 4 | 1.076 5 | 0.084 7 | 0.467 5 | 0.739 5 | 1.966 6 | 0.348 3 | 0.245 5 | 0.255 9 |
| 1804504 | 0.569 8 | 1.505 1 | 1.102 9 | 0.084 6 | 0.463 2 | 0.728 8 | 1.979 9 | 0.348 8 | 0.248 0 | 0.259 9 |
| 1804505 | 0.579 5 | 1.531 1 | 1.092 2 | 0.082 4 | 0.475 6 | 0.734 5 | 2.002 1 | 0.350 9 | 0.246 6 | 0.260 0 |
| 1804506 | 0.576 1 | 1.485 9 | 1.065 3 | 0.083 9 | 0.460 2 | 0.756 6 | 1.958 8 | 0.345 8 | 0.245 9 | 0.257 6 |
| 1804507 | 0.578 1 | 1.508 8 | 1.078 7 | 0.085 3 | 0.467 6 | 0.735 2 | 1.997 3 | 0.348 1 | 0.240 4 | 0.250 3 |
| 1804508 | 0.598 7 | 1.497 8 | 1.089 4 | 0.081 7 | 0.473 4 | 0.747 1 | 2.021 0 | 0.346 5 | 0.247 4 | 0.254 3 |
| 1804509 | 0.579 9 | 1.545 6 | 1.076 5 | 0.080 3 | 0.467 5 | 0.738 2 | 1.958 6 | 0.350 0 | 0.250 0 | 0.255 2 |
| 1804510 | 0.572 2 | 1.521 6 | 1.068 4 | 0.083 2 | 0.465 9 | 0.726 6 | 1.956 3 | 0.359 2 | 0.250 1 | 0.258 7 |
| 1804511 | 0.581 2 | 1.540 9 | 1.096 5 | 0.083 3 | 0.476 3 | 0.734 7 | 1.970 4 | 0.356 2 | 0.251 9 | 0.258 4 |
| 1804512 | 0.583 4 | 1.585 6 | 1.062 1 | 0.081 6 | 0.462 7 | 0.755 2 | 1.967 7 | 0.361 3 | 0.242 3 | 0.256 1 |
| 含量平均值 | 0.579 0 | 1.523 5 | 1.080 9 | 0.083 1 | 0.468 0 | 0.739 6 | 1.977 9 | 0.351 5 | 0.246 8 | 0.256 6 |
| RSD(%) | 1.44 | 1.89 | 1.28 | 1.92 | 1.18 | 1.39 | 1.11 | 1.55 | 1.44 | 1.16 |

3 分析与讨论

3.1 波长的选择

使用二极管阵列检测器对复方金银花颗粒样品进行全波长扫描,主要依据每个化合物的最大吸光值与分离度,确定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 A、连翘酯苷 B、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的共同检测波长为 320 nm。

3.2 色谱条件的选择

采用梯度洗脱,曾选择不同品牌的反相 C₁₈ 色谱柱,如 Intersil C₁₈、Kromasil C₁₈、Ultimate[®] XB

C₁₈等进行比较,选择不同规格如(150 mm × 4.6 mm,5 μm)、(250 mm × 4.6 mm,5 μm)等进行比较,选择不同流动相系统如乙腈-磷酸水溶液、甲醇-水、乙腈-水、乙腈-醋酸水溶液等,结果采用 Kromasil C₁₈(250 mm × 4.6 mm,5 μm)与流动相系统乙腈-0.1%磷酸水溶液,结果分离度较好,故将此条件作为检测色谱条件。

3.3 供试品制备方法

参照文献[22],同时对供试品的制备方法进行考察,如溶剂选择(甲醇、水、不同浓度的甲醇)、提取方法(超声及超声时间、加热回流)等,由于加热回流

提取与超声提取比较,未见更多色谱峰信息,而超声提取时间短且色谱信息丰富。综合上述各因素,选择50%甲醇超声30 min提取,得到较理想的色谱峰信息(如峰面积大、分离度好等)。

3.4 成分含量

10批制剂中10种成分含量差异较小,说明各种成分均一性较好,生产工艺流程相对稳定。但本试验未进行不同厂家制剂含量的比较,将在以后试验中比较并进一步探讨入血成分及组织分布。

综上所述,本试验建立了复方金银花颗粒的10种成分HPLC含量测定方法,该方法操作简单、易于实施,准确、稳定、重复性好,同时为规范和优化本品的生产工艺,保证质量的均一性和稳定性,达到用药安全、稳定的目的提供了理论依据,因此该方法可作为评价复方金银花颗粒质量的有效方法之一。

【参考文献】

- [1] 姜南辉. 金银花化学成分研究[J]. 中药材, 2015, 38(2): 315-317.
- [2] 于洋, 宋卫霞, 郭庆兰, 等. 金银花水提取物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3496-3504.
- [3] 王磊, 刘金贤, 赵金娟, 等. 我国金银花种质资源概述[J]. 中国现代中药, 2012, 14(12): 28-30.
- [4] 朱姮, 崔莉, 刘倩, 等. HPLC-DAD-ESI-Q-TOF/MS法测定金银忍冬花中的化学成分[J]. 中草药, 2017, 48(11): 2300-2305.
- [5] 崔春雨, 刘志平, 周敏, 等. 金银花化学成分的研究[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2012, 37(3): 530-533.
- [6] 胡璇, 李卫东, 贾翎, 等. 四倍体金银花药材体外抗菌抗病毒实验研究[J]. 中国现代中药, 2015, 17(11): 1160-1163+1170.
- [7] 张泽生, 乌兰. 金银花中绿原酸的体外抑菌和抗氧化性的研究[J]. 天津科技大学学报, 2005, 20(2): 5-8+34.
- [8] 张晨曦, 刘素香, 赵艳敏, 等. 基于液质联用技术的连翘化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2053-2060.
- [9] 史洋, 王小平, 白吉庆, 等. 连翘抗菌、抗病毒的药理作用研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(11): 950-953.
- [10] 袁岸, 赵梦洁, 李燕, 等. 连翘的药理作用综述[J]. 中药与临床, 2015, 6(5): 56-59.
- [11] 闫丽丽, 姜颖. 连翘药材主要化学成分及药理作用研究综述[J]. 中国新技术新产品, 2011(11): 11.
- [12] 王立娟. 黄芩药材的高效液相色谱指纹图谱及黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量的同时测定[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(18): 1665-1668.
- [13] 王雅芳, 李婷, 唐正海, 等. 中药黄芩的化学成分及药理研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1): 206-211.
- [14] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 王建新. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.
- [15] 刘晓婷, 张沂, 顾立刚, 等. 黄芩苷体外抗流感病毒作用的研究[J]. 天津中医药, 2015, 32(4): 229-233.
- [16] 谢林利, 周密, 陈勇川, 等. 黄芩苷、黄芩素抑制铜绿假单胞菌生物膜形成的研究[J]. 中国药房, 2010, 21(39): 3651-3653.
- [17] 高光武, 李玲. 黄芩提取物的抗炎作用及其作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(6): 550-552.
- [18] 施高翔, 邵菁, 汪天明, 等. 黄芩及其有效成分抗菌作用新进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3713-3718.
- [19] 肖炜明, 卜平, 龚卫娟. 汉黄芩素抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(16): 3004-3009.
- [20] 郭明, 伍周玲, 王春歌, 等. 黄芩苷-金属配合物的合成及其抗肿瘤活性研究[J]. 药学报, 2014, 49(3): 337-345.
- [21] 王雅芳, 李婷, 唐正海, 等. 中药黄芩的化学成分及药理研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1): 206-211.
- [22] 唐励静, 文翔昊, 李冲, 等. HPLC同时测定复方金银花颗粒中绿原酸、连翘苷、黄芩苷、汉黄芩素、芹菜素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 71-74.

[收稿日期] 2018-07-25 [修回日期] 2018-11-22

[本文编辑] 李睿旻