

# UPLC 法测定银翘解毒口服液中牛蒡苷、蒙花苷、绿原酸、隐绿原酸

李锦\* (南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029)

**摘要:**目的 采用 UPLC 测定银翘解毒口服液中牛蒡苷、蒙花苷、绿原酸、隐绿原酸。方法 色谱柱: C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 流动相: 乙腈-0.1% 甲酸水进行梯度洗脱, 检测波长 300 nm, 流速 0.3 mL/min, 柱温 40 °C。结果 所检测的各色谱峰分离度良好, 方法学实验结果符合 UPLC 法测定要求。结论 该方法可用于银翘解毒口服液的质量控制。

**关键词:**超高效液相色谱; 银翘解毒口服液; 牛蒡苷; 蒙花苷; 绿原酸; 隐绿原酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2014)06-0576-02

## UPLC Simultaneous Determination of Chlorogenic Acid, Cryptochlorogenic Acid, Arctiin and Buddleoside in Yinqiaojiedu Oral Liquid

LI Jin\* (The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210029, China)

**KEY WORDS:** Yinqiaojiedu oral liquid ; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; arctiin; buddleoside; UPLC

银翘解毒口服液源于经典名方银翘散, 在临床使用过程中经加减而得有效经验方, 由金银花、连翘、野菊花、牛蒡子等药组成。本次实验建立了高效、快速的超高效液相色谱法, 一次进样同时测定制剂中绿原酸等 4 个活性成分的含量, 为全面控制制剂的质量提供了有效保证<sup>[1-2]</sup>。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

Acquity™ 超高效液相色谱仪 (Waters); XP6 型电子天平 (METTLER TOLEDO)。

甲醇 (色谱纯, 美国 Merck 公司), 乙腈 (色谱纯, Merck 公司), 水 (密理博纯水仪制备); 甲酸 (分析纯, 上海化学试剂有限公司)。牛蒡苷 (批号: 110819-200606), 蒙花苷 (批号: 111528-200504), 绿原酸 (批号: 110753-200212), 中国药品生物制品检定所。隐绿原酸对照品 (批号: 905-99-7, 上海同田生物技术有限公司, 纯度 > 98%)。银翘解毒口服液 (实验室自制, 批号: 130912、130916、130920)。

#### 1.2 对照品溶液的制备

精密称取蒙花苷、牛蒡苷、隐绿原酸、绿原酸对照品适量, 置于 25 mL 量瓶中, 以 50% 乙腈为溶剂, 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得到蒙花苷、牛蒡苷、隐绿

原酸、绿原酸浓度分别为 250.4、228.8、203.2、406.4 μg/mL 的混合对照品储备液, 备用。

#### 1.3 供试品溶液的制备

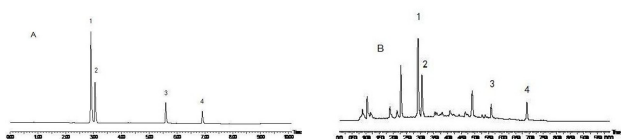
精密量取银翘解毒口服液 2.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加重蒸水稀释至刻度, 摇匀, 滤过 (0.45 μm 微孔滤膜), 取续滤液, 备用。

### 2 结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Waters BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 采用乙腈 (A) 与 0.1% 甲酸 (B) 进行梯度洗脱, 0~6 min (A: 5%~32%), 6~7 min (A: 32%), 7~8 min (A: 32%~5%), 8~12 min (A: 5%), 流速 0.3 mL/min, λ = 300 nm, 柱温 40 °C, 进样量: 1 μL。

按照“2.1”项下色谱条件分别进样对照品溶液和样品溶液, 结果, 所检测的 4 个成分均能达到基线分离, 理论塔板数以绿原酸计在 8 万以上, 见图 1。



注: A. 对照品; B. 供试品; 1. 绿原酸; 2. 隐绿原酸; 3. 牛蒡苷; 4. 蒙花苷

图 1 对照品与供试品 UPLC 图

收稿日期: 2014-07-11; 修稿日期: 2014-10-09

基金项目: 南京中医药大学儿科重点学科开放课题 (EZK2009019)

作者简介: 李锦 (1975-), 女, 江苏南京人, 南京中医药大学附属医院主管中药师。\* 通信作者: lijintcm1068@163.com

## 2.2 线性关系考察

精密量取 0.5、1、2、4、8 mL 的对照品溶液,置于 10 mL 量瓶中,并用 50%乙腈稀释至刻度后摇匀备用,按“2.1”的色谱条件进行测定。以对照品的峰面积积分值( $Y$ )对相应的浓度( $X$ )进行线性回归,得回归方程,结果见表 1。

## 2.3 精密度试验

精密量取“1.3”项下混合对照品储备液 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加 50%乙腈稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下条件连续进样 6 次,测定记录绿原酸、隐绿原酸、牛蒡苷、蒙花苷的峰面积并计算其  $RSD$  ( $n=6$ ),结果分别为:0.85%、1.13%、1.26%、1.33%,表明本台仪器精密度良好。

表 1 各成分的回归方程和线性范围

化合物	回归方程	$r$	线性范围/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
绿原酸	$Y=74.432X+15.29$	0.999 8	20.32~325.12
隐绿原酸	$Y=43.213X+23.94$	0.999 6	10.16~162.56
牛蒡苷	$Y=18.347X+10.21$	0.999 5	11.44~183.04
蒙花苷	$Y=33.432X-12.13$	0.999 7	12.52~200.32

## 2.4 稳定性试验

取批号为 130912 的样品,按“1.3”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 取样,按照“2.1”项下条件测定,记录绿原酸、隐绿原酸、牛蒡苷、蒙花苷的峰面积并计算其  $RSD$  ( $n=6$ ),分别为

表 2 银翘解毒口服液中 4 个成分的含量测定 ( $n=6$ )

批号	绿原酸		隐绿原酸		牛蒡苷		蒙花苷	
	质量浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$RSD$ / %	质量浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$RSD$ / %	质量浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$RSD$ / %	质量浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$RSD$ / %
130912	1 087.2	1.12	410.4	1.35	122.4	1.85	400.8	1.18
130916	1 052.9	1.07	400.9	1.84	113.7	1.36	390.4	1.98
130920	1 069.5	1.76	406.8	1.21	109.5	2.12	386.5	2.17

## 3 讨论

前期文献研究表明,同类产品的质量控制在多测定其中 1~2 个成分的含量,本文首次建立 UPLC 法同时测定银翘解毒口服液中多个活性成分的含量,与普通 HPLC 法相比,UPLC 法快速、简便,具有较高的分析效率。经与普通 HPLC 法对比,本实验的分析检测时间缩短了 4/5,实验效率得到了较大提高,而绿原酸、隐绿原酸、牛蒡苷、蒙花苷分别属于复方中的君、臣、佐药中的活性成分,同时测定更能全面控制中药及其复方复杂体系的质量。

### 参考文献:

[1] 崔兰冲,李小芳,韩莹,等.HPLC 测定野菊花中蒙花苷与木犀草

0.97%、1.05%、1.67%、1.38%,表明银翘解毒口服液在 24 h 内稳定性良好。

## 2.5 重复性试验

取批号为 130912 样品,按“1.3”项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按照“2.1”项下条件取样测定,结果 6 份样品中绿原酸、隐绿原酸、牛蒡苷、蒙花苷的平均浓度和  $RSD$  ( $n=6$ ) 分别为 271.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1.06%; 102.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.95%; 30.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1.40%; 100.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1.73%,实验重现性良好。

## 2.6 加样回收率试验

取批号为 130912 的样品,精密吸取 1.25 mL,置 10 mL 量瓶中,加入含绿原酸 340.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、隐绿原酸 127.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、牛蒡苷 38.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、蒙花苷 124.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合对照品溶液 4 mL,加 50%乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,平行制备 6 份,按“2.1”项下条件测定,计算 4 个成分的回收率和  $RSD$  ( $n=6$ ),分别为 98.2%, 2.37%; 97.1%, 2.85%; 95.4%, 2.63%; 96.7%, 2.19%。表明回收率良好。

## 2.7 样品的测定

取 3 批银翘解毒口服液,按照“1.3”项下操作制备供试品液,每批平行 3 份,按“2.1”项下色谱条件测定,每份进样 2 次,计算每批样品中各成分的质量浓度,结果见表 2。

素的含量[J].中国中药杂志,2007,32(1):33-35.

Cui LC, Li XF, Han Y, et al. Determination of linarin and luteolin in Flos Chrysanthemi indicis by HPLC[J]. China J Chin Mater Med, 2007, 32(1): 33-35.

[2] 石钺,石任兵,刘斌,等.银翘散抗病毒有效部位群中黄酮类成分研究[J].中国中药杂志,2001,26(5):320-322.

Shi Y, Shi RB, Liu B, et al. Studies on antiviral flavonoids in Yinqiaosan powder[J]. China J Chin Mater Med, 2001, 26(5): 320-322.

(编辑:董宇)