

HPLC 法测定双黄连口服液中的成分含量

王 适

湖南中医药大学第二附属医院 410005

[摘要] 目的 使用 HPLC 法测定双黄连口服液中的成分含量。方法 使用 ZorbaxSBC18 色谱柱, 0.2% 甲酸 0.4mmol/L 醋酸钠的水 (A) - 甲醇 (B) 为流动相进行梯度洗脱。柱温 25℃, 体积流量 0.35mL/min; ESI 正离子模式下使用时段 SIM 模式。结果 绿原酸的线性范围为 0.050 ~ 50.0 μg/mL ($r=0.9991$); 咖啡酸线性范围 0.030 - 25.0 μg/mL ($r=0.9988$); 黄芩苷线性范围 0.040 - 300 μg/mL (0.9998); 木犀草素线性范围 0.010 - 25.0 μg/mL ($r=0.9994$)。结论 HPLC 法准确性较高, 可重复测量, 其检测结果可为双黄连口服液的质控工作提供参考。

[关键词] 绿原酸; 咖啡酸; 黄芩苷; 木犀草素; 双黄连口服液

[中图分类号] R286.0

[文献标识码] A

[文章编号] 1674-9561 (2017) 04-203-01

双黄连口服液的主要组成成分为金银花、黄芩和连翘, 其主要功效为疏风解表、清热解毒^[1], 可治疗外感风热所致的感冒, 对于常见的发热头痛、咳嗽、咽喉痛有明确的治疗效果^[2]。双黄连口服液的主要活性成分为绿原酸、咖啡酸、黄芩苷和木犀草素。目前, 测定双黄连口服液成分的有效方式为高效液相色谱法 (HPLC), 相对于常用的紫外检测器, 质谱检测器的灵敏度与专属性更高, 能够获取更多的化合物结构信息, 对于复杂样品的检测具有更大的优势。

1 仪器与试剂

仪器采用 DionexF60 高效液相色谱仪, Chromeleon6.8 工作站, ZorbaxSBC18 色谱柱, BS124S 电子天平, AS3120A 超声清洗器以及 HH-4 恒温水浴锅。样品为双黄连口服液 (生产厂家: 南阳市新生制药有限公司, 批准文号: 国药准字 Z41022093), 甲醇 (Fisher), 甲酸及试剂为分析纯, 所有用水均为超纯水, 绿原酸、咖啡酸、黄芩苷和木犀草素为对照品。

2 方法及结果

2.1 色谱条件

使用 ZorbaxSBC18 色谱柱 (250mm×4.6mm, 5 μm); 0.2% 甲酸 0.4mmol/L 醋酸钠的水 (A) - 甲醇 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 274nm, 柱温 25℃。流速 0.8mL·min⁻¹, 进样量为 5 μL。

2.2 溶液制备

黄芩苷溶液对照品的制备: 精密称量黄芩苷 10.47mg 放入 25mL 容量瓶中, 加入 50% 甲醇溶液稀释摇匀。绿原酸溶液对照品制备: 精密称量绿原酸 4.82mg 置入 25mL 容量瓶, 加入净水稀释摇匀。咖啡酸溶液对照品的制备: 精密称量 4.92mg 咖啡酸置入 25mL 容量瓶中, 加入 50% 甲醇溶液稀释摇匀。木犀草素溶液对照品制备与咖啡酸相同。

2.3 供试品溶液制备

使用甲醇溶液将 100 μL 双黄连口服液样品溶解定容至 10mL, 然后使用 0.45 μm 微孔滤膜, 进行 HPLC 分析。

表 1. 四种成分的线性方程、相关系数及检出限

	线性回归方程	线性范围 (μg/mL)	相关系数	检出限 / (μg/mL-1)
绿原酸	$Y=3.86 \times 10^6 x + 3.83 \times 10^5$	0.050 - 50.0	0.9991	0.010
咖啡酸	$Y=6.75 \times 10^6 x + 1.50 \times 10^5$	0.030 - 25.0	0.9988	0.008
黄芩苷	$Y=6.08 \times 10^6 x + 1.33 \times 10^5$	0.040 - 300	0.9998	0.004
木犀草素	$Y=6.11 \times 10^6 x + 2.88 \times 10^5$	0.010 - 25.0	0.9994	0.003

按照色谱条件, 记录峰面积, 将四种成分溶液按照混合对照品的配置比例, 分别配置不同浓度的混合对照品, 使用 0.45 μm 微孔滤膜进行过滤并进样, 进样量为 10 μL。然后以进样的质量浓度作为横坐标, 峰面积作为纵坐标, 绘制曲线图后进行线性回归分析, 得到回归方程和相关系数, 得出四种成分的检出限, 见表 1。

3 讨论

双黄连口服液具有清热解毒的效果, 对于流感、上呼吸道感染和发热疾病有明确的治疗作用^[3], 是一种以金银花、黄芩、连翘的为主要成分的中成药制剂, 在 2000、2005、2010 版的《中国药典》中均有收录, 双黄连口服液中的质控成分只有为绿原酸、咖啡酸、黄芩苷及木犀草素^[4], 本次研究中通过使用 HPLC 变波长梯度洗脱法测量四种成分的含量, 证明 HPLC 能够准确、快速的测量双黄连口服液中的有效成分,

2.4 色谱与质谱行为

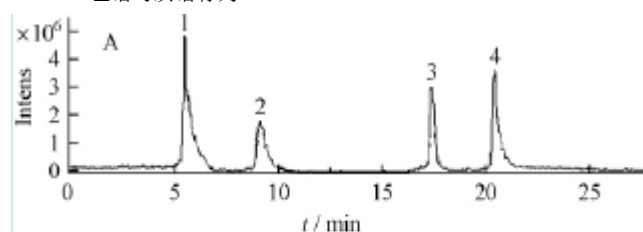


图 1. 对照品 (A) 的 SIM 色谱图

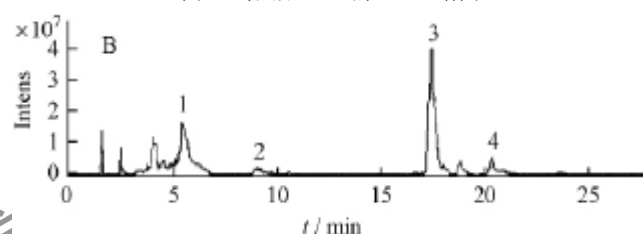


图 2. 对照品 (B) 的 SIM 色谱图

1. 绿原酸 2. 咖啡酸 3. 黄芩苷 4. 木犀草素

2.5 质谱特征离子谱

以峰的保留时间及质谱信息定性, 4 种成分与样品均有良好的分离效果, 其中绿原酸主要为 m/z 377.4 分子的钠和钾加合离子峰, 黄芩苷主要为 m/z 181.0 分子的钠和钾加合离子峰, 咖啡酸为 m/z 181.0 分子的钠和钾加合离子峰, 木犀草素为 m/z 287.1 分子的钠和钾加合离子峰, 根据这个信息, 可使用 m/z 377.4 的离子对绿原酸监测, 使用 m/z 181.0 对黄芩苷监测, 使用 m/z 181.0 对咖啡酸监测, 使用 287.1 对木犀草素监测。

2.6 线性关系与检出限

且此方法具有较高的可重复性, 其检测结果可为双黄连口服液的质控工作提供参考。

[参考文献]

- [1] 周晔, 李薇, 韩立峰等. HPLC-ESI-MS 和 FTIR 方法鉴别不同产地中药肉苁蓉的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2015(4):1056-1061.
- [2] 孙婷, 姜建国, 张菁等. HPLC 法测定比沙可啶肠溶片含量的测量不确定度评定 [J]. 中国药房, 2016, 27(24):3428-3430.
- [3] 魏莹, 李文东, 杨武亮等. HPLC 法测定不同贮存年限广陈皮药材中主要活性成分的含量 [J]. 中国药房, 2016, 27(15):2131-2134.
- [4] 林伟豪, 陈连剑, 高崇凯等. HPLC 法测定并比较茵陈蒿煎剂与其配方颗粒中有效成分的含量 [J]. 中国药房, 2016, 27(15):2102-2106.