

高效液相色谱法同时测定茵栀黄颗粒中 14 个化学成分

张玉珊¹, 刘谢英¹, 姚新成^{1,2*}, 罗莉¹

(1. 石河子大学药学院, 石河子 832000; 2. 新疆植物药资源与利用教育部重点实验室, 石河子 832000)

摘要 目的: 建立同时测定市售茵栀黄颗粒中新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1,3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷及千层纸素 A 共 14 个化学成分含量的高效液相色谱方法。**方法:** 采用 Diamonsil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 325 nm, 进样量 20 μL。**结果:** 茵栀黄颗粒中上述 14 个化学成分均可实现较好的分离, 在一定的线性范围内呈良好的线性关系 ($r \geq 0.999 0$)、精密度 (RSD < 2.5%)、稳定性 (RSD < 2.5%) 和重复性 (RSD < 2.5%) 良好, 平均回收率 ($n=9$) 在 95.0%~105.0% 范围内, RSD 在 0.8%~3.1% 范围内。8 批样品中上述 14 个成分的含量范围分别为 0.535~0.653、2.228~2.717、5.171~5.833、0.216~0.274、0.618~0.827、0.323~0.452、0.163~0.386、0.511~0.685、68.515~77.164、0.013~0.018、0.206~1.356、0.797~1.915、0.174~0.786、0.035~0.136 mg · g⁻¹。**结论:** 该方法可用于茵栀黄颗粒的质量控制与评价。

关键词: 茵栀黄颗粒; 茵陈; 栀子; 黄芩; 金银花; 新绿原酸; 绿原酸; 京尼平苷; 二咖啡酰奎宁酸; 木犀草苷; 黄芩苷; 滨蒿内酯; 汉黄芩素; 黄芩素; 汉黄芩苷; 千层纸素 A; 含量测定; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2019) 07-1229-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.07.09

Simultaneous determination of fourteen constituents in Yinzhihuang granules by HPLC

ZHANG Yu-shan¹, LIU Xie-ying¹, YAO Xin-cheng^{1,2*}, LUO Li¹

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resource and Utilization, Ministry of Education, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, geniposide, 1,3-dicaffeoylquinic acid, luteoloside, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, 4,5-dicaffeoylquinic acid, baicalin, scoparone, wogonin, baicalein, wogonoside and oroxylin A in Yinzhihuang granules bought from market. **Methods:** High-performance liquid chromatography was carried out on a Diamonsil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile (A)-0.1% formic acid water solution (B) at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, a column temperature of 30 °C, a detection wavelength of 325 nm and the sample size of 20 μL by using gradient elution. **Results:** Above-mentioned 14 compounds were

* 通信作者 Tel: 18935718423; E-mail: yxc@whu.edu.cn

第一作者 Tel: 13179939468; E-mail: 840603343@qq.com

separated well and showed an excellent linear relationship ($r \geq 0.999 0$) with high precision, stability and repeatability (RSD < 2.5%). In addition, the average rate ($n=9$) of the 14 above-mentioned compounds was 95.0%–105.0% with the RSD value of 0.8%–3.1%. The contents of the above-mentioned 14 compounds of 8 groups were 0.535–0.653, 2.228–2.717, 5.171–5.833, 0.216–0.274, 0.618–0.827, 0.323–0.452, 0.163–0.386, 0.511–0.685, 68.515–77.164, 0.013–0.018, 0.206–1.356, 0.797–1.915, 0.174–0.786, 0.035–0.136 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** This method can be used as an efficient method for quality control and evaluation of Yinzhihuang granules.

Keywords: Yinzhihuang granules; *Artemisia capillaris* Thunb.; *Gardenia jasminoides* Ellis; *Scutellaria baicalensis* Georgi; *Lonicera japonica* Thunb.; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; geniposide; dicaffeoylquinic acid; luteoloside; baicalin; scoparone; wogonin; baicalein; wogonoside; oroxylin A; content determination; HPLC

茵栀黄颗粒收录于2015年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)第一部,由茵陈、栀子、黄芩、金银花4味药材的提取物制成^[1]。传统中药理论认为该方中茵陈为君药,栀子、黄芩为臣药,佐以具有清热解毒作用的金银花,共同起到清热解毒及利湿退黄的功效^[2-3]。经现代医学研究表明,茵栀黄颗粒具有保肝利胆及抗肝纤维化等作用^[4],该方中君药茵陈的提取物具利胆保肝,解热镇痛,消炎等作用^[5];臣药栀子的提取物具有镇痛抗炎,调节血糖,抗血栓,抗动脉粥样硬化等功效^[6-7];臣药黄芩的提取物具抗菌,抗炎,抗病毒,抗氧化等作用,并能有效改善肝、肺、心肌等器官纤维化病变^[8-9];佐药金银花的提取物具有解热抗炎,抗肿瘤,降血糖,降血脂,免疫调节等多种药效^[10-11]。临床上将茵栀黄颗粒主要用于辅助治疗新生儿黄疸症,该制剂能有效保障新生儿的生命安全并降低由于胆红素代谢和排泄异常而引发的神经性脑病的发生率^[12-13]。

目前,茵栀黄颗粒成分的定性定量研究已有部分文献报道^[14-16],如陈永刚等^[14]应用高效液相色谱-波长切换法同时测定了茵栀黄颗粒中绿原酸、咖啡酸、栀子苷、黄芩苷等7个有效成分;范建伟等^[15]应用HPLC建立了测定茵栀黄颗粒中栀子苷、山栀苷、去乙酰车叶草苷酸甲酯和京尼平-1- β -D-龙胆二糖苷4个环烯醚萜苷类成分含量的方法;彭明丽等^[16]应用HPLC法同时测定了茵栀黄颗粒中黄芩苷、木犀草素和绿原酸的含量。以上方法的定性定量研究多涉及为茵栀黄颗粒中的部分成分,极少同时测定茵栀黄颗粒中十几种成分。因此,本实验建立了高效液相色谱法对茵栀黄颗粒进行成分分析,并测定了新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1,3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、

3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷及千层纸素A共14个有效成分的含量,为完善茵栀黄颗粒质量评价标准提供实验依据。

1 仪器与试剂

二元高压双泵 LC-20AT 高效液相色谱仪(岛津公司);SPD-M20A 光电二极管阵列紫外可见光检测器(岛津公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ES 225SM-DR 型十万分之一天平(SWISS MADE);金怡旋涡混合器(金坛市医疗仪器厂);SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海雅荣生化仪器设备有限公司)。

化学对照品新绿原酸(批号 AF7050442)、京尼平苷(批号 AF7110308)、1,3-二咖啡酰奎宁酸(批号 AF8030809)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(批号 AF7080124)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(批号 AF7060542)、黄芩苷(批号 AF7061702)、滨蒿内酯(批号 AF8030807)、汉黄芩素(批号 AF7121402)、黄芩素(批号 AF8030808)、汉黄芩苷(批号 AB7100922)、千层纸素A(批号 AF7110209)均购自成都埃法生物科技有限公司,绿原酸(批号 110753-200413)购自中国食品药品检定研究院,3,5-二咖啡酰奎宁酸(批号 161022)购自成都昂赛思生物科技有限公司,木犀草苷(批号 Y05D8H49919)购自上海源叶生物科技有限公司,其纯度均 >98.0%(HPLC 测定)。市售 1~8 号茵栀黄颗粒样品,批号分别为 09180011、08118030、08118020、00918004、00917188、00917122、00917102、00916101,鲁南厚普制药有限公司。甲酸为分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯, Fisher 公司;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 迪马公司 Diamonsil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~5 min, 15%A → 20%A; 5~20 min, 20%A → 35%A; 20~40 min, 35%A → 55%A; 40~45 min, 55%A → 35%A); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 325 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL; 运行时间: 45 min。

2.2 溶液制备

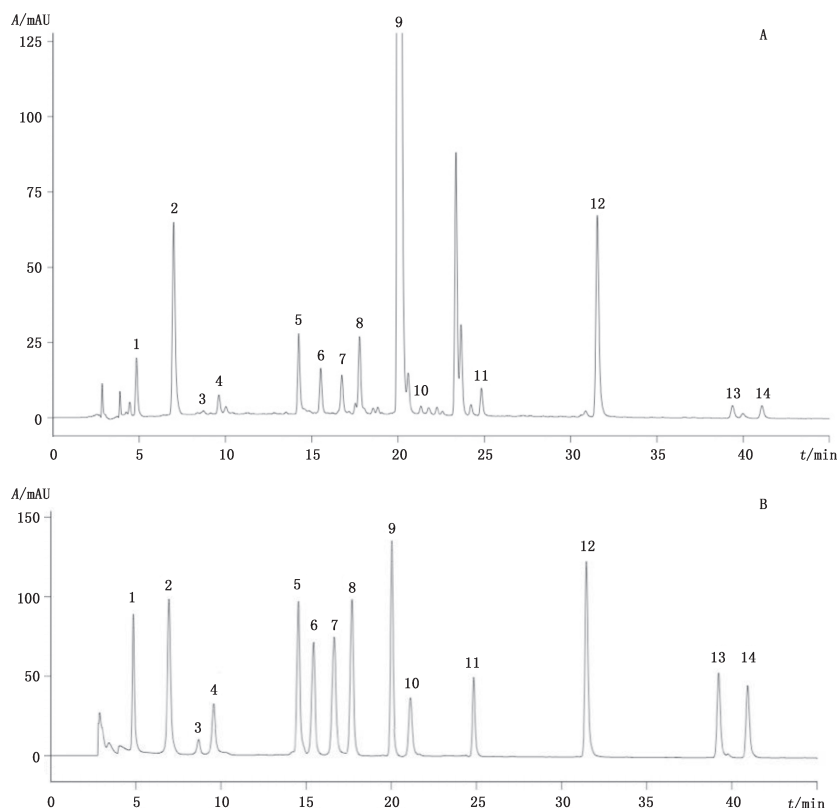
2.2.1 供试品溶液 取茵栀黄颗粒适量, 研细, 取 0.20 g, 精密称定, 置 25 mL 具塞锥形瓶中, 加 50% 甲醇水约 20 mL, 超声提取 (300 W, 40 kHz) 30 min。提取液取出放冷后用 50% 甲醇水定容至 25 mL, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.2 对照品溶液 精密称取新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3, 4-二咖啡酰奎宁酸、3, 5-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄

芩苷、千层纸素 A 的对照品适量, 分别用甲醇溶解, 制成质量浓度均为 1.0 mg · mL⁻¹ 的 14 个对照品储备液。分别取 14 个对照品储备液各 0.1 mL, 置同一 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 混匀, 即得混合对照品溶液。依次精密吸取新绿原酸、绿原酸、汉黄芩素的对照品储备液各 1 mL, 1, 3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、黄芩素的对照品储备液各 0.5 mL, 3, 4-二咖啡酰奎宁酸、3, 5-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-二咖啡酰奎宁酸的对照品储备液各 1 mL, 滨蒿内酯、汉黄芩苷、千层纸素 A 的对照品储备液各 1 mL, 分别置于 4 个 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 混匀, 即得混合对照品溶液 A、B、C、D。将上述对照品储备液、混合对照品溶液于 4 °C 保存, 备用。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性考察 取混合对照品溶液和供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下测定, 发现混合对照品及供试品中各化合物的色谱峰基本达到基线分离, 并且分离度良好, 见图 1。



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid) 3. 京尼平苷 (geniposide) 4. 1, 3-二咖啡酰奎宁酸 (1, 3-dicaffeoylquinic acid) 5. 木犀草苷 (luteoloside) 6. 3, 4-二咖啡酰奎宁酸 (3, 4-dicaffeoylquinic acid) 7. 3, 5-二咖啡酰奎宁酸 (3, 5-dicaffeoylquinic acid) 8. 4, 5-二咖啡酰奎宁酸 (4, 5-dicaffeoylquinic acid) 9. 黄芩苷 (baicalin) 10. 滨蒿内酯 (scoparone) 11. 汉黄芩素 (wogonin) 12. 黄芩素 (baicalein) 13. 汉黄芩苷 (wogonoside) 14. 千层纸素 A (oroxilin A)

图 1 样品 (A)、混合对照品 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample (A) and mixed reference substances (B)

2.3.2 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品储备液 0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mL, 分别用甲醇稀释并定容至 1.0 mL, 即得系列黄芩苷对照品溶液; 精密吸取京尼平苷对照品储备液 0.04、0.06、0.08、0.10、0.12、0.14 mL, 分别用甲醇稀释并定容至 1.0 mL, 即得系列京尼平苷对照品溶液; 精密吸取混合对照品溶液 A 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 混合对照品溶液 B 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 mL, 混合对照品溶液

C 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL, 混合对照品溶液 D 0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 mL, 分别用甲醇稀释并定容至 10.0 mL, 即得系列混合对照品溶液。在“2.1”项色谱条件下, 取上述各浓度系列对照品溶液分别进样 20 μL 进行分析, 以峰面积积分值 Y 对进样浓度 X ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行回归, 绘制标准曲线, 计算 14 个成分的回归方程及线性范围, 结果见表 1, 表明进样浓度在一定范围内与峰面积呈良好的线性关系。

表 1 14 个成分的回归方程、相关系数、线性范围及检测下限、定量下限

Tab. 1 The regression equations, correlation coefficients, linear ranges, LOD and LOQ of 14 components

分析物 (analyte)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检测下限 (LOD) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	定量下限 (LOQ) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	$Y=38\ 098X-4\ 114$	0.999 5	1.0~40	0.080	0.290
绿原酸 (chlorogenic acid)	$Y=41\ 142X-75\ 290$	0.999 5	1.0~40	0.150	0.400
京尼平苷 (geniposide)	$Y=13\ 590X-189\ 266$	0.999 2	40~140	0.155	0.500
1, 3-二咖啡酰奎宁酸 (1, 3-dicaffeoylquinic acid)	$Y=29\ 942X+1\ 737$	0.999 2	0.5~15	0.160	0.490
木犀草苷 (luteoloside)	$Y=44\ 354X+17\ 311$	0.999 2	0.5~15	0.030	0.210
3, 4-二咖啡酰奎宁酸 (3, 4-dicaffeoylquinic acid)	$Y=46\ 440X-6\ 830$	0.999 0	1.0~20	0.180	0.440
3, 5-二咖啡酰奎宁酸 (3, 5-dicaffeoylquinic acid)	$Y=43\ 253X+47\ 432$	0.999 5	1.0~20	0.100	0.230
4, 5-二咖啡酰奎宁酸 (4, 5-dicaffeoylquinic acid)	$Y=59\ 248X-6\ 048$	0.999 6	1.0~20	0.120	0.260
黄芩苷 (baicalin)	$Y=59\ 146X-6\ 000\ 000$	0.999 1	300~800	0.012	0.035
滨蒿内酯 (scoparone)	$Y=49\ 361X+4\ 947$	0.999 6	0.1~10	0.030	0.080
汉黄芩素 (wogonin)	$Y=15\ 551X+3\ 706$	0.999 2	1.0~40	0.004	0.012
黄芩素 (baicalein)	$Y=59\ 092X+71\ 085$	0.999 3	0.5~15	0.150	0.300
汉黄芩苷 (wogonoside)	$Y=26\ 726X+3\ 428$	0.999 8	0.1~10	0.020	0.280
千层纸素 A (oroxilin A)	$Y=56\ 355X+13\ 387$	0.999 0	0.1~10	0.020	0.220

2.3.3 检测下限和定量下限测定 取混合对照品溶液适量, 逐步稀释, 按“2.1”项下条件进样 20 μL 进行测定, 信噪比为 3:1 时测得检测下限, 信噪比为 10:1 时测得定量下限, 见表 1。

2.3.4 精密度试验 精密吸取“2.3.2”项下各系列黄芩苷对照品溶液、京尼平苷对照品溶液、混合对照品溶液各 20 μL , 分别在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次, 记录色谱图峰面积, 分析计算得新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3, 4-二咖啡酰奎宁酸、3, 5-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷及千层纸素 A 峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 2.0%、2.3%、1.1%、1.1%、2.0%、1.8%、1.8%、1.6%、

2.4%、1.4%、1.3%、2.1%、0.83% 和 0.91%, 表明仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20 μL , 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样分析, 测得新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1, 3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3, 4-二咖啡酰奎宁酸、3, 5-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷及千层纸素 A 峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 2.2%、1.0%、1.6%、1.9%、2.3%、2.4%、0.67%、1.9%、2.2%、2.1%、1.1%、0.86%、2.5%、0.77%, 表明供试品溶液中各待测成分在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验 取茵栀黄颗粒粉末, 按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 在“2.1”项色谱

条件下测定,测得新绿原酸、绿原酸、京尼平苷、1,3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷及千层纸素 A 的平均含量分别为 0.620、2.500、5.597、0.351、2.860、0.454、0.254、0.494、76.25、0.013、0.713、1.890、0.234、0.063 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 2.0%、2.4%、1.2%、1.3%、1.9%、1.2%、0.68%、1.5%、1.9%、2.0%、

1.1%、0.95%、1.9%、1.5%, 表明该方法的重复性良好。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取 9 份已知含量的茵栀黄颗粒样品 0.10 g, 按各成分含量的 80%、100%、120% 分别加入 14 个成分的对照品储备液, 按“2.2.1”项下方法制成供试溶液, 在“2.1”项色谱条件下测定, 计算各成分的加样回收率以及 RSD, 结果见表 2。

表 2 茵栀黄颗粒加样回收率试验结果
Tab. 2 Recovery results of Yinzhihuang granules

分析物 (analyte)	原含量 (contented)/mg	加样量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/ %(n=9)	RSD/%
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.310 0	0.261 5	0.574 0	101.0	100.8	2.1
	0.310 0	0.261 5	0.564 0	97.1		
	0.310 0	0.261 5	0.569 5	99.2		
	0.310 0	0.310 0	0.627 5	102.4		
	0.310 0	0.310 0	0.634 0	104.5		
	0.310 0	0.310 0	0.630 0	103.2		
	0.310 0	0.372 0	0.678 5	99.1		
	0.310 0	0.372 0	0.685 0	100.8		
	0.310 0	0.372 0	0.682 5	100.1		
绿原酸 (chlorogenic acid)	1.250 5	1.000 0	2.249 0	99.9	101.3	1.8
	1.250 5	1.000 0	2.249 5	99.9		
	1.250 5	1.000 0	2.276 5	102.6		
	1.250 5	1.250 5	2.553 0	104.2		
	1.250 5	1.250 5	2.541 5	103.2		
	1.250 5	1.250 5	2.542 5	103.3		
	1.250 5	1.500 6	2.757 5	100.4		
	1.250 5	1.500 6	2.745 5	99.6		
	1.250 5	1.500 6	2.735 0	99.0		
京尼平苷 (geniposide)	2.798 5	2.239 0	4.997 0	98.2	99.1	1.7
	2.798 5	2.239 0	5.034 5	99.9		
	2.798 5	2.239 0	4.964 5	96.7		
	2.798 5	2.798 5	5.549 5	98.3		
	2.798 5	2.798 5	5.517 5	97.2		
	2.798 5	2.798 5	5.663 0	102.4		
	2.798 5	3.358 0	6.157 0	100.0		
	2.798 5	3.358 0	6.179 5	100.7		
	2.798 5	3.358 0	6.112 5	98.7		

表 2(续)

分析物 (analyte)	原含量 (contented)/mg	加样量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/ %(n=9)	RSD/%
1,3-二咖啡酰奎宁酸(1,3-dicaffeoylquinic acid)	0.175 5	0.140 4	0.321 5	104.0	99.6	2.4
	0.175 5	0.140 4	0.317 0	99.4		
	0.175 5	0.140 4	0.312 0	95.8		
	0.175 5	0.175 5	0.351 0	98.9		
	0.175 5	0.175 5	0.356 5	102.0		
	0.175 5	0.175 5	0.346 5	96.3		
	0.175 5	0.210 6	0.388 5	100.2		
	0.175 5	0.210 6	0.386 5	99.2		
	0.175 5	0.210 6	0.390 0	100.9		
木犀草苷(luteoloside)	0.319 5	0.255 6	0.571 0	98.4	98.3	0.80
	0.319 5	0.255 6	0.571 0	98.4		
	0.319 5	0.255 6	0.568 0	97.2		
	0.319 5	0.319 5	0.631 5	97.7		
	0.319 5	0.319 5	0.635 5	98.9		
	0.319 5	0.319 5	0.632 5	98.0		
	0.319 5	0.383 4	0.694 0	97.7		
	0.319 5	0.383 4	0.703 0	100.0		
	0.319 5	0.383 4	0.698 0	98.7		
3,4-二咖啡酰奎宁酸(3,4-dicaffeoylquinic acid)	0.227 0	0.181 5	0.408 5	100.0	99.8	2.1
	0.227 0	0.181 5	0.408 0	99.7		
	0.227 0	0.181 5	0.405 5	98.3		
	0.227 0	0.227 0	0.449 5	98.0		
	0.227 0	0.227 0	0.460 0	102.6		
	0.227 0	0.227 0	0.445 5	96.3		
	0.227 0	0.272 4	0.508 0	103.2		
	0.227 0	0.272 4	0.497 0	99.1		
	0.227 0	0.272 4	0.501 0	100.6		
3,5-二咖啡酰奎宁酸(3,5-dicaffeoylquinic acid)	0.127 0	0.101 6	0.227 5	98.9	99.6	1.7
	0.127 0	0.101 6	0.229 0	100.4		
	0.127 0	0.101 6	0.226 5	97.9		
	0.127 0	0.127 0	0.255 5	101.2		
	0.127 0	0.127 0	0.253 0	99.2		
	0.127 0	0.127 0	0.254 0	100.0		
	0.127 0	0.152 4	0.275 5	97.4		
	0.127 0	0.152 4	0.277 0	98.4		
	0.127 0	0.152 4	0.284 0	103.0		

表 2(续)

分析物 (analyte)	原含量 (contented)/mg	加样量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/ %(n=9)	RSD/%
4, 5-二咖啡酰奎宁酸 (4, 5-dicaffeoylquinic acid)	0.247 0	0.197 6	0.439 0	97.2	98.9	2.4
	0.247 0	0.197 6	0.451 5	103.5		
	0.247 0	0.197 6	0.442 0	98.7		
	0.247 0	0.247 0	0.494 5	100.2		
	0.247 0	0.247 0	0.484 0	96.0		
	0.247 0	0.247 0	0.497 0	101.2		
	0.247 0	0.296 4	0.544 0	100.2		
	0.247 0	0.296 4	0.534 5	97.0		
	0.247 0	0.296 4	0.533 0	96.5		
黄芩苷 (baicalin)	38.125 0	30.500 0	68.587 5	99.9	99.6	2.2
	38.125 0	30.500 0	68.544 0	99.7		
	38.125 0	30.500 0	68.750 0	100.4		
	38.125 0	38.125 0	76.625 0	101.0		
	38.125 0	38.125 0	77.187 5	102.5		
	38.125 0	38.125 0	74.687 5	95.9		
	38.125 0	45.750 0	84.375 0	101.1		
	38.125 0	45.750 0	81.937 5	95.8		
	38.125 0	45.750 0	84.062 5	100.4		
滨蒿内酯 (scoparone)	0.006 5	0.005 2	0.011 8	101.9	100.3	2.2
	0.006 5	0.005 2	0.011 4	98.1		
	0.006 5	0.005 2	0.011 5	96.1		
	0.006 5	0.006 5	0.013 2	103.1		
	0.006 5	0.006 5	0.012 9	98.5		
	0.006 5	0.006 5	0.013 1	101.5		
	0.006 5	0.007 8	0.014 5	102.6		
	0.006 5	0.007 8	0.014 4	101.3		
	0.006 5	0.007 8	0.014 3	100.0		
汉黄芩素 (wogonin)	0.356 5	0.285 2	0.635 5	98.6	99.7	3.1
	0.356 5	0.285 2	0.636 0	97.8		
	0.356 5	0.285 2	0.6970	98.0		
	0.356 5	0.356 5	0.726 5	103.8		
	0.356 5	0.356 5	0.710 0	99.2		
	0.356 5	0.356 5	0.725 0	103.4		
	0.356 5	0.427 8	0.789 0	101.1		
	0.356 5	0.427 8	0.764 5	95.4		
	0.356 5	0.427 8	0.779 5	98.9		

表 2(续)

分析物 (analyte)	原含量 (contented)/mg	加样量 (added)/mg	测得量 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/ %(n=9)	RSD/%
黄芩素 (baicalin)	0.945 0	0.755 5	1.659 5	95.3	99.6	2.6
	0.945 0	0.755 5	1.709 0	101.1		
	0.945 0	0.755 5	1.677 0	96.9		
	0.945 0	0.945 0	1.904 5	101.5		
	0.945 0	0.945 0	1.903 0	101.4		
	0.945 0	0.945 0	1.894 5	100.5		
	0.945 0	1.133 5	2.084 5	100.5		
	0.945 0	1.133 5	2.088 0	100.9		
	0.945 0	1.133 5	2.061 5	98.5		
汉黄芩苷 (wogonoside)	0.117 0	0.094 0	0.212 0	101.1	99.7	2.5
	0.117 0	0.094 0	0.206 6	95.3		
	0.117 0	0.094 0	0.209 5	98.4		
	0.117 0	0.117 0	0.235 0	100.9		
	0.117 0	0.117 0	0.232 0	98.3		
	0.117 0	0.117 0	0.239 5	104.7		
	0.117 0	0.140 4	0.257 3	99.9		
	0.117 0	0.140 4	0.256 0	99.0		
	0.117 0	0.140 4	0.257 5	100.1		
千层纸素 A (oroxylin A)	0.031 5	0.025 0	0.056 9	101.6	100.8	2.1
	0.031 5	0.025 0	0.057 0	100.4		
	0.031 5	0.025 0	0.056 6	103.2		
	0.031 5	0.031 5	0.064 0	104.1		
	0.031 5	0.031 5	0.064 3	99.4		
	0.031 5	0.031 5	0.062 8	99.7		
	0.031 5	0.037 5	0.069 2	100.5		
	0.031 5	0.037 5	0.068 3	98.1		
	0.031 5	0.037 5	0.068 1	97.6		

2.3.8 样品测定 取不同批次的样品各 3 份, 分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”

项色谱条件下测定, 以外标法计算含量, 结果见表 3。

表 3 不同批次茵栀黄颗粒中 14 个主要成分的含量 ($n=3$)

Tab. 3 Contents of fourteen main components in Yinzhihuang granules of different batches

分析物 (analyte)	含量 (content) / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)							
	样品 1 (sample No.1)	样品 2 (sample No.2)	样品 3 (sample No.3)	样品 4 (sample No.4)	样品 5 (sample No.5)	样品 6 (sample No.6)	样品 7 (sample No.7)	样品 8 (sample No.8)
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	0.573	0.553	0.546	0.552	0.581	0.653	0.651	0.535
绿原酸 (chlorogenic acid)	2.420	2.296	2.428	2.404	2.384	2.717	2.477	2.228
京尼平苷 (geniposide)	5.709	5.460	5.678	5.644	5.404	5.804	5.833	5.171
1,3-二咖啡酰奎宁酸 (1,3-dicaffeoylquinic acid)	0.257	0.247	0.260	0.274	0.250	0.260	0.249	0.216
木犀草苷 (luteoloside)	0.754	0.639	0.827	0.735	0.618	0.685	0.621	0.715
3,4-二咖啡酰奎宁酸 (3,4-dicaffeoylquinic acid)	0.381	0.323	0.407	0.452	0.350	0.450	0.347	0.330
3,5-二咖啡酰奎宁酸 (3,5-dicaffeoylquinic acid)	0.282	0.208	0.312	0.386	0.163	0.328	0.173	0.176
4,5-二咖啡酰奎宁酸 (4,5-dicaffeoylquinic acid)	0.514	0.514	0.608	0.685	0.511	0.682	0.538	0.541
黄芩苷 (baicalin)	77.032	68.844	75.528	73.807	75.167	77.164	68.515	69.262
滨蒿内酯 (scoparone)	0.015	0.015	0.013	0.018	0.011	0.017	0.013	0.014
汉黄芩素 (wogonin)	0.206	1.308	1.356	1.173	0.548	0.720	0.725	0.601
黄芩素 (baicalein)	1.915	1.361	2.106	1.534	1.232	1.663	1.289	0.797
汉黄芩苷 (wogonoside)	0.786	0.239	0.313	0.263	0.246	0.300	0.174	0.283
千层纸素 A (oroxylin A)	0.136	0.089	0.119	0.095	0.088	0.101	0.070	0.035

3 讨论

3.1 流动相的考察

在流动相的选择上,比较了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%甲酸水溶液,以各色谱峰分离度、出峰时间、峰形为评价指标。以甲醇-水为流动相梯度洗脱时,柱压较高,峰形较差;以乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱时,柱压较低,各色谱峰分离良好且基线平稳,故选定乙腈-0.1%甲酸水溶液作为梯度洗脱流动相。

3.2 检测波长的选择

根据《中国药典》2015年版及各成分的出峰时间,比较了供试品溶液在波长 238、280、325 nm 时的色谱图数据,结果表明在 325 nm 波长下,新绿原酸、绿原酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、木犀草苷、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、黄芩苷、滨蒿内酯、汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩苷、千层纸素 A 均有较强的吸收,京尼平苷虽吸收较弱,但是在此波长下仍可以进行有效检测,且该波长下基线平稳,出峰数较多,色谱峰响应值较高,故最

终选择 325 nm 为检测波长。

4 结论

本实验建立了高效液相色谱法同时测定茵栀黄颗粒中 14 个有效成分的含量,且该方法操作简单,测定结果准确可靠,并具有较好的重复性、稳定性,可实际应用于对茵栀黄颗粒的含量测定,为完善茵栀黄颗粒质量评价标准提供了实验依据,同时为后续研究茵栀黄颗粒中有效活性成分提供实验基础。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 1154
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 1154
- [2] 金素娟. 茵栀黄颗粒联合蓝光照射与护理干预新生儿病理性黄疸疗效观察[J]. 新中医, 2016, 48(3): 200
JIN SJ. Therapeutic effect of Yinzhihuang granule combined with blue light irradiation and nursing intervention on neonatal pathological jaundice[J]. J New Chin Med, 2016, 48(3): 200
- [3] 张宏兵. 不同剂型茵栀黄在新生儿黄疸治疗中的临床疗效及经济性研究[J]. 中医临床研究, 2017, 9(20): 49
ZHANG HB. Clinical efficacy and economic study on different

- dosage forms of Yinzhihuang on neonatal jaundice [J]. *Clin J Chin Med*, 2017, 9(20): 49
- [4] 谭桢, 刘爱明, 罗敏, 等. 茵栀黄注射液抗胆汁淤积药效成分的筛选及其作用机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(6): 1113
TAN Z, LIU AM, LUO M, *et al.* Screening of effective ingredients of Yinzhihuang injection against cholestasis and their mechanism [J]. *China J Chin Mater Med*, 2016, 41(6): 1113
- [5] 曹锦花. 茵陈的化学成分和药理作用研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2013, 30(6): 489
CAO JH. Advanced study on chemical constituents and pharmaceutical activities of *Artemisiae Scopariae Herba* [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2013, 30(6): 489
- [6] 刘益华, 李晶, 林曼婷, 等. 栀子有效成分栀子苷的现代研究进展 [J]. *中国药学杂志*, 2012, 47(6): 406
LIU YH, LI J, LIN MT, *et al.* Advances in modern research on scorpion glycosides [J]. *Chin Pharm J*, 2012, 47(6): 406
- [7] 宋晓静, 孙勇, 付云鹤, 等. 栀子苷药理作用的研究进展 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(4): 78
SONG XJ, SUN Y, FU YH, *et al.* Advances in research on pharmacological effects of geniposide [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 2015(4): 78
- [8] 吉晓丽. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中医临床研究*, 2017, 9(9): 128
JI XL. A review on chemical constituents and pharmacological effects of *Scutellaria Radix* [J]. *Clin J Chin Med*, 2017, 9(9): 128
- [9] 朱庆均. 黄芩苷与黄芩素治疗纤维化疾病研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(7): 1271
ZHU QJ. Research advances on baicalin and baicalein as potential therapeutic agents for fibrotic disease [J]. *China J Chin Mater Med*, 2017, 42(7): 1271
- [10] 冯彦, 王红丽. 中药金银花的药用成分及临床药理研究 [J]. *中医临床研究*, 2014, 6(6): 95
FENG Y, WANG HL. A study on *Flos Lonicerae*'s medicinal component and pharmacological effect [J]. *Clin J Chin Med*, 2014, 6(6): 95
- [11] 赵媛媛, 杨倩茹, 郝江波, 等. 金银花与忍冬藤及叶药理作用差异的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(13): 2422
ZHAO YY, YANG QR, HAO JB, *et al.* Research progress on pharmacological effects and their differences among the flowers, stems and leaves of *Lonicera japonica* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2016, 41(13): 2422
- [12] 陈健萍, 袁海超, 陈志凤. 茵栀黄颗粒辅助治疗新生儿黄疸的疗效评价 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2017, 27(10): 32
CHEN JP, YUAN HC, CHEN ZF. Evaluation of the efficacy of Yinzhihuang granule in the treatment of neonatal jaundice [J]. *Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med*, 2017, 27(10): 32
- [13] 汤晶晶. 茵栀黄颗粒联合蓝光治疗新生儿黄疸的临床效果观察与分析 [J]. *中华全科医学*, 2015, 13(4): 611
TANG JJ. Observation and analysis of clinical effect of Yinzhihuang granules combined with blue light on neonatal jaundice [J]. *Chin J Gen Pract*, 2015, 13(4): 611
- [14] 陈永刚, 马传学, 黄成琼, 等. 高效液相色谱-波长切换法同时测定茵栀黄颗粒中的7种有效成分 [J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(11): 894
CHEN YG, MA CX, HUANG CQ, *et al.* Simultaneous determination of seven active ingredients in Yinzhihuang granules by high performance liquid chromatography-wavelength switching [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2012, 32(11): 894
- [15] 范建伟, 李艳芳, 闫光军, 等. HPLC同时测定茵栀黄颗粒中4个环烯醚萜苷类成分 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(20): 46
FAN JW, LI YF, YAN GJ, *et al.* Simultaneous determination of four iridoid glycosides in Yinzhihuang granules by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2013, 19(20): 46
- [16] 彭明丽, 赵冠人, 温筱煦. HPLC法同时测定茵栀黄颗粒中黄芩苷、木犀草素和绿原酸的含量 [J]. *中国药房*, 2016, 26(6): 837
PENG ML, ZHAO GR, WEN XX. Simultaneous determination of baicalin, luteolin and chlorogenic acid in Yinzhihuang granules by HPLC [J]. *China Pharm*, 2016, 26(6): 837

(本文于2018年8月14日收到)