

HPLC-DAD 法同时测定栀芩清热合剂中多指标成分含量*

郝乘仪¹, 于蕾¹, 昌盛^{1**}, 胡杨¹, 刘磊²

(1. 吉林医药学院药学院, 吉林 132013; 2. 吉化集团公司总医院, 吉林 132021)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法同时测定栀芩清热合剂中京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸 8 个成分的含量。方法: 采用 Platisil ODS 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~20 min, 10%A → 16%A; 20~30 min, 16%A → 40%A; 30~50 min, 40%A → 80%A), 流速 1 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 变换波长检测 (240 nm 处检测京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素; 327 nm 处检测绿原酸)。结果: 京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸的线性范围分别为 0.081 9~4.914 μg ($r=0.999 4$), 0.005~0.3 μg ($r=0.999 0$), 0.016 2~0.972 μg ($r=0.999 8$), 0.057~3.42 μg ($r=0.999 5$), 0.002 1~0.126 μg ($r=0.999 9$), 0.005 5~0.33 μg ($r=0.999 7$), 5.45~87.17 μg ($r=0.999 7$), 0.004 1~0.246 0 μg ($r=0.999 4$), 平均回收率 ($n=9$) 分别为 98.7% (RSD=1.4%), 97.6% (RSD=1.35%), 102.0% (RSD=1.5%), 97.5% (RSD=1.3%), 96.6% (RSD=1.4%), 98.5% (RSD=1.6%), 98.10% (RSD=1.5%), 101.5% (RSD=1.9%)。3 批样品中京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸的含量分别为 1.745 5~1.804 3、1.123 6~1.185 2、10.128 3~10.448 5、10.743 8~11.421 9、2.676 1~2.810 2、0.998 9~1.025 1、0.969 7~0.980 8、0.178 3~0.186 9 mg · g⁻¹。结论: 经方法学验证, 本法可作为栀芩清热合剂质量控制的一个有效的方法。
关键词: 栀芩清热合剂; 京尼平苷酸; 京尼平龙胆双糖苷; 京尼平苷; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 甘草酸; 黄芩素; 绿原酸; 中成药标准提高; 高效液相色谱; 变换波长

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 09-1601-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.09.19

Simultaneous determination of index compounds in Zhiqin Qingre mixture by HPLC-DAD*

HAO Cheng-yi¹, YU Lei¹, CHANG Sheng^{1**}, HU Yang¹, LIU Lei²

(1. College of Pharmacy, Jilin Medical University, Jilin 132013, China; 2. The General Hospital of CNPC in Jilin, Jilin 132021, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of geniposidic acid, genipin 1-gentiobioside, geniposide, baicalin, wogonoside, glycyrrhizic acid, baicalein and chlorogenic acid in Zhiqin Qingre mixture. **Methods:** The separation was performed on a Platisil ODS column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with gradient elution (0~20 min, 10%A → 16%A; 20~30 min, 16%A → 40%A; 30~50 min, 40%A → 80%A)

* 吉林市科技局课题 (20165020)

** 通信作者 Tel: (0432) 64560319; E-mail: 33663656@qq.com

第一作者 Tel: (0432) 64561063; E-mail: yuleilei120@163.com

using acetonitrile and 0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase. The flow rate was $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the detection wavelengths were 240 nm for geniposidic acid, genipin 1-gentiobioside, geniposide, baicalin, wogonoside, glycyrrhizic acid and baicalein; and 327 nm for chlorogenic acid, respectively. **Results:** The linear ranges of geniposidic acid, genipin 1-gentiobioside, geniposide, baicalin, wogonoside, glycyrrhizic acid, baicalein and chlorogenic acid were $0.0819\text{--}4.914 \mu\text{g}$ ($r=0.9994$), $0.005\text{--}0.3 \mu\text{g}$ ($r=0.9990$), $0.0162\text{--}0.972 \mu\text{g}$ ($r=0.9998$), $0.057\text{--}3.42 \mu\text{g}$ ($r=0.9995$), $0.0021\text{--}0.126 \mu\text{g}$ ($r=0.9999$), $0.0055\text{--}0.33 \mu\text{g}$ ($r=0.9997$), $5.45\text{--}87.17 \mu\text{g}$ ($r=0.9997$) and $0.0041\text{--}0.2460 \mu\text{g}$ ($r=0.9994$), respectively. Their average recoveries were 98.7% (RSD=1.40%), 97.6% (RSD=1.4%), 102.0% (RSD=1.5%), 97.5% (RSD=1.3%), 96.6% (RSD=1.4%), 98.5% (RSD=1.6%), 98.1% (RSD=1.5%) and 101.5% (RSD=1.9%), respectively. The contents of geniposidic acid, genipin 1-gentiobioside, geniposide, baicalin, wogonoside, glycyrrhizic acid, baicalein and chlorogenic acid in three samples were $1.7455\text{--}1.8043 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $1.1236\text{--}1.1852 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $10.1283\text{--}10.4485 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $10.7438\text{--}11.4219 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.6761\text{--}2.8102 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.9989\text{--}1.0251 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.9697\text{--}0.9808 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $0.1783\text{--}0.1869 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The HPLC method is proved by methodology validation that it can be used as quality control method of Zhiqin Qingre mixture.

Keywords: Zhiqin Qingre mixture; geniposidic acid; genipin 1-gentiobioside; geniposide; baicalin; wogonoside; glycyrrhizic acid; baicalein; chlorogenic acid; standard improvement for Chinese patent medicine; HPLC; wavelength switching

梔芩清热合剂由梔子、黄芩、甘草、淡竹叶、连翘、薄荷油共 6 味药材组成,主要用于治疗三焦热毒产生的发热,口渴,尿赤^[1],其中梔子有泻火除烦、凉血解毒、清利湿热的功效。梔子中主要活性成分有京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、绿原酸;黄芩中的活性成分有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素等,具有凉血解毒、清热燥湿的效果,主要治疗上呼吸道感染引起的肺炎、疮疥等病症;甘草中含有甘草酸,甘草性温,可以清热解毒、祛痰止咳,且可以调和各味中药^[2]。梔芩清热合剂为《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2015 年版新收录的中药制剂,但只测定其中京尼平苷的含量,对其他成分未有规定,不利于整体控制药品质量,而有关梔芩清热合剂的含量测定和质量控制文献较少,都是单独测定其中黄芩苷的含量^[3-5],目前未见同时测定此药多种组分含量的报道。本文建立了高效液相色谱法同时测定京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸 8 个成分的含量,对于梔芩清热合剂的质量控制具有重要意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津公司 LC-20AT 高效液相色谱仪,包括 SPD-M20A 二极管阵列检测器、SIL-20A 自动进样器、岛津 LC-solution 工作站;迪马科技有限公司 DIKMA

Platisil ODS 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶);Millipore 公司 Synergy 185 超纯水仪,昆山市超声仪器有限公司 KQ-250DE 型数控超声波清洗器。

1.2 试剂

对照品京尼平苷酸(批号 111828-201403,纯度 ≥ 97.4%)、京尼平苷(批号 110749-201316,纯度 ≥ 97.6%)、黄芩苷(批号 110715-200514,纯度 ≥ 93.5%)、汉黄芩苷(批号 112002-201501,纯度 ≥ 98.5%)、甘草酸(批号 110731-201418,纯度 ≥ 93.0%)、黄芩素(批号 111595-201306,纯度 ≥ 98.5%)、绿原酸(批号 110753-201415,纯度 ≥ 99.3%)均购自中国食品药品检定研究院,京尼平龙胆双糖苷(批号 141120,纯度 ≥ 98%)购自成都普菲德生物技术有限公司;梔芩清热合剂(批号 150901,160702,170301,广东万年青制药有限公司)。乙腈为色谱纯,水为超纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 取 $0.117 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的京尼平苷酸的对照品溶液 0.7 mL, $0.100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的京尼平龙胆双糖苷对照品溶液 0.5 mL, $0.108 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的京尼平苷的对照品溶液 1.5 mL, 0.57 mg 黄芩苷对照品, $0.105 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的汉黄芩苷的对照品溶液 0.2 mL, $0.109 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甘草酸的对照品溶液 0.5 mL, 0.119

$\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的黄芩素的对照品溶液 0.5 mL 以及 0.5 mL 的 $0.082 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的绿原酸对照品溶液, 将其置于同一 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 制成含京尼平苷酸 $0.0819 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、京尼平龙胆双糖苷 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、京尼平苷 $0.0162 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、黄芩苷 $0.057 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、汉黄芩苷 $0.0021 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甘草酸 $0.00545 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、黄芩素 $0.00595 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、绿原酸 $0.0041 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

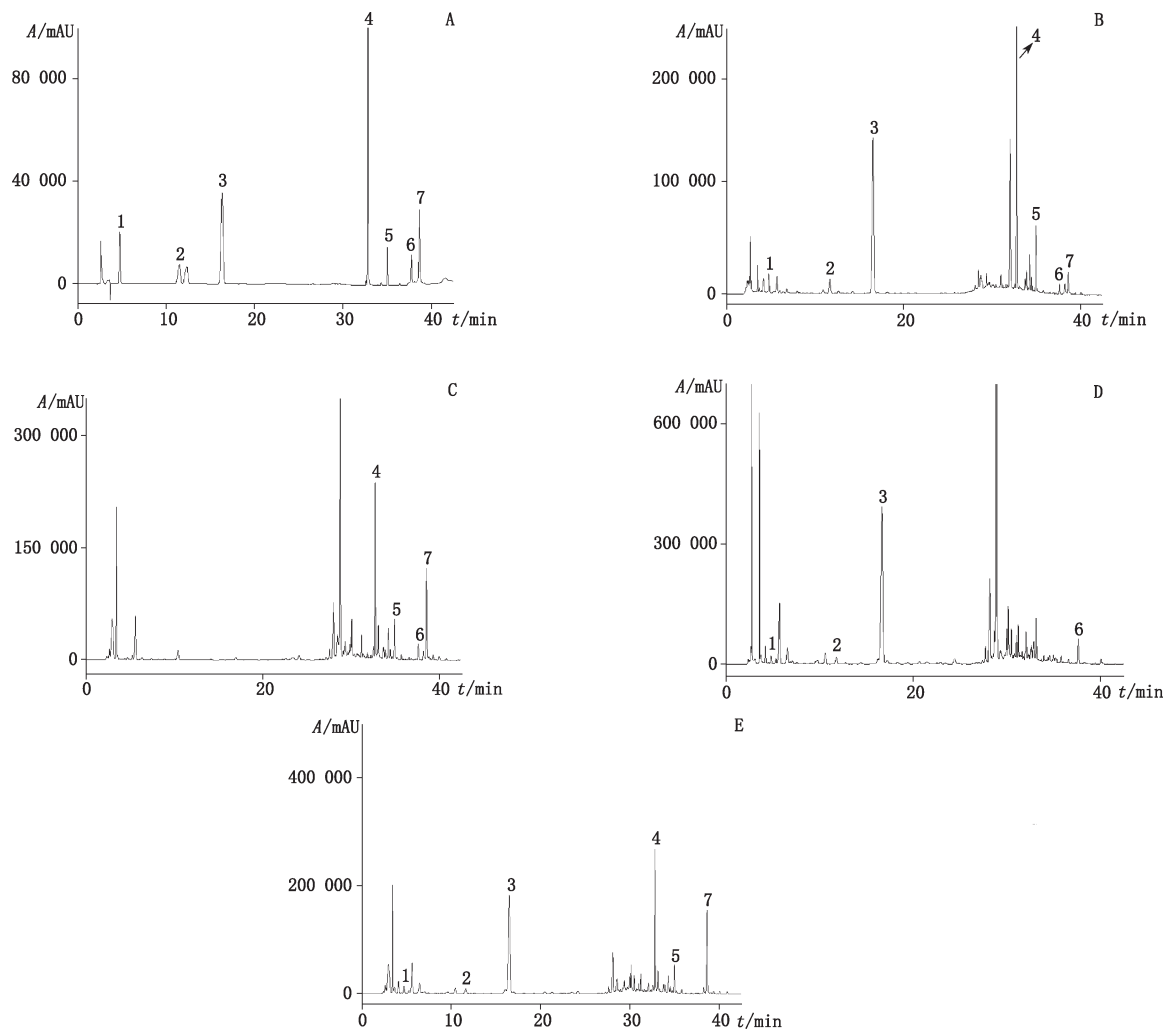
2.1.2 供试品溶液 精密量取梔芩清热合剂 1.25 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇水至刻度, 摇匀, 滤过, 称量, 精密量取续滤液 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇水至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液^[1]。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方分别制备缺少梔子、黄

芩、甘草的阴性样品, 按“2.2”项方法操作, 即得阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

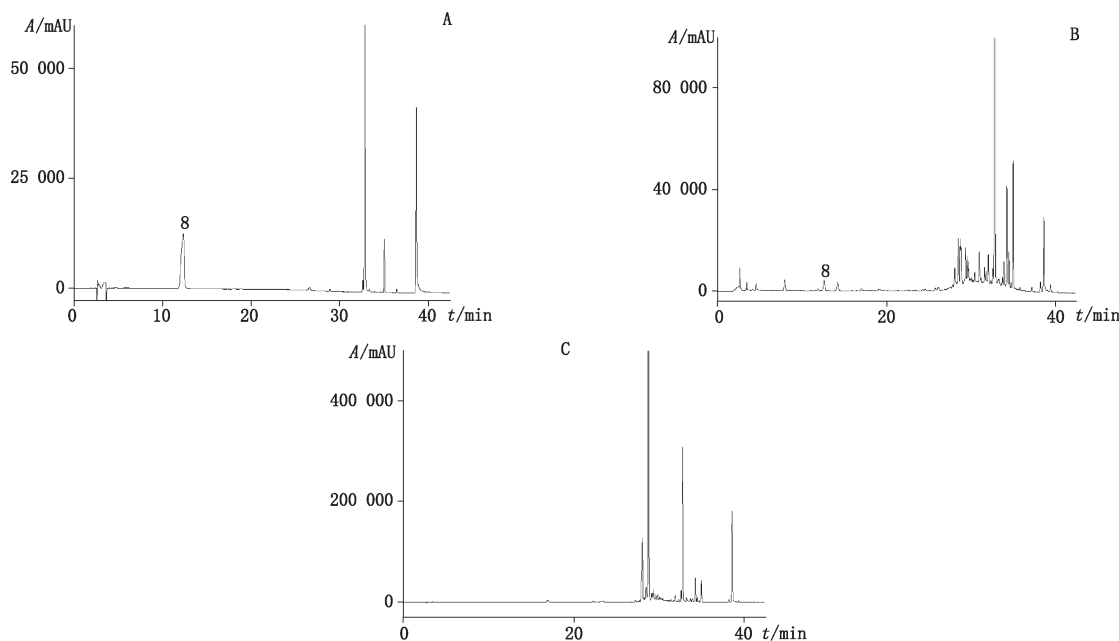
色谱柱: DIKMA Platisil ODS (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 (A)–0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~20 min, 10%A \rightarrow 16%A; 20~30 min, 16%A \rightarrow 40%A; 30~50 min, 40%A \rightarrow 80%A); 流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 240 nm (京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素)、327 nm (绿原酸); 进样量: 20 μL 。在上述色谱条件下, 各待测组分分离度均大于 1.5, 理论塔板数均大于 5 000。混合对照品溶液、样品溶液及各阴性样品溶液色谱图见图 1、图 2。



1. 京尼平苷酸 (geniposidic acid) 2. 京尼平龙胆双糖苷 (genipin 1-gentiobioside) 3. 京尼平苷 (geniposide) 4. 黄芩苷 (baicalein) 5. 汉黄芩苷 (wogonoside) 6. 甘草酸 (glycyrrhizic acid) 7. 黄芩素 (baicalein)

图 1 混合对照品 (A)、样品 (B)、不含梔子的阴性样品 (C)、不含黄芩的阴性样品 (D) 和不含甘草的阴性样品 (E) 在 240 nm 处色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), sample (B), negative sample without Common Gardenia Fruit (C), negative sample without Baikal Skullcap Root (D), and negative sample without Liquorice Root (E) at 240 nm



8. 绿原酸 (chlorogenic acid)

图 2 混合对照品 (A)、样品 (B) 和不含栀子的阴性样品 (C) 在 327 nm 处色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), sample (B), and negative sample without Common Gardenia Fruit (C) at 327 nm

2.3 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 1、10、15、20、40、60 μL 进样测定; 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 进样量 (X)

为横坐标进行线性回归, 得京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸的线性回归方程, 见表 1。

表 1 8 个成分的线性回归方程

Tab. 1 Linear regression equations of eight components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range) / μg
京尼平苷酸 (geniposidic acid)	$Y=7.215 \times 10^3 X+2.786 \times 10^4$	0.999 4	0.081 9~4.914
京尼平龙胆双糖苷 (genipin 1-gentiobioside)	$Y=5.310 5 \times 10^3 X+2.883 \times 10^4$	0.999 0	0.005~0.3
京尼平苷 (geniposide)	$Y=2.475 \times 10^4 X+6.887 \times 10^4$	0.993 8	0.016 2~0.972
黄芩苷 (baicalin)	$Y=2.773 4 \times 10^5 X+9.200 \times 10^4$	0.999 5	0.057~3.42
汉黄芩苷 (wogonoside)	$Y=1.340 \times 10^4 X+1.610 \times 10^3$	0.999 9	0.002 1~0.126
甘草酸 (glycyrrhizic acid)	$Y=3.198 \times 10^3 X+2.836 \times 10^3$	0.999 7	0.005 5~0.33
黄芩素 (baicalein)	$Y=2.863 \times 10^4 X+4.673 \times 10^4$	0.999 7	5.45~87.17
绿原酸 (chlorogenic acid)	$Y=8.531 \times 10^3 X+5.897 \times 10^4$	0.999 4	0.004 1~0.246 0

2.4 精密度试验

取混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 测得混合对照品中京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 1.1%、0.95%、0.47%、0.28%、1.4%、0.44%、1.2%、1.3%。

2.5 稳定性试验

取同一供试品溶液, 室温放置, 分别于 0、2、4、6、12、24 h 进行测定, 测得京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸峰面积的 RSD ($n=6$) 分别为 1.4%、1.6%、0.85%、0.48%、1.5%、1.7%、0.76%、1.2%, 表明供试

品溶液在常温下 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取梔芩清热合剂样品,按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,以“2.2”项下色谱条件进行测定,得京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸的平均含量($n=6$)分别为 1.768 7、1.147 9、10.188 5、11.261 5、2.777 5、1.031、0.973 1、0.178 8 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, RSD 分别为 1.5%、

0.96%、1.3%、0.4%、1.5%、1.2%、1.0%、1.6%。

2.7 加样回收率试验

精密称取“2.6”项已测知含量的样品 0.6 mL,共 9 份,平均分为 3 组,按低、中、高浓度(80%、100%、120%)分别加入一定量的京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸、黄芩素、绿原酸对照品,按照“2.1.2”项下方法制备供试溶液,进样 20 μL 进行测定,结果见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=9$)

Tab. 2 Results of recovery test

成分 (component)	样品含量 (content)/mg	加入量 (added)/mg	测得值 (found)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
京尼平苷酸 (geniposidic acid)	1.061 22	0.971 2	2.033 1	100.1	98.7	1.4
	1.061 22	0.971 2	2.036 5	100.4		
	1.061 22	0.971 2	2.034 1	100.2		
	1.061 22	1.214	2.261 4	98.9		
	1.061 22	1.214	2.256 7	98.5		
	1.061 22	1.214	2.258 4	98.6		
	1.061 22	1.456 8	2.485 6	97.8		
	1.061 22	1.466 8	2.480 5	96.8		
	1.061 22	1.456 8	2.471 3	96.8		
京尼平龙胆双糖苷 (genipin 1-gentiobioside)	0.688 74	0.497 6	1.178 6	98.4	97.6	1.4
	0.688 74	0.497 6	1.180 8	98.9		
	0.688 74	0.497 6	1.182 1	99.2		
	0.688 74	0.622	1.285 6	96.0		
	0.688 74	0.622	1.297 4	97.9		
	0.688 74	0.622	1.289 7	96.6		
	0.688 74	0.746 4	1.425 8	98.8		
	0.688 74	0.746 4	1.413 6	97.1		
	0.688 74	0.746 4	1.402 5	95.6		
京尼平苷 (geniposide)	6.113 1	4.828	11.153	104.4	102.0	1.5
	6.113 1	4.828	11.125 9	103.8		
	6.113 1	4.828	11.1047	103.4		
	6.113 1	6.035	12.184 1	100.6		
	6.113 1	6.035	12.178 7	100.5		
	6.113 1	6.035	12.241 5	101.6		
	6.113 1	7.242	13.436 5	101.1		
	6.113 1	7.242	13.427 7	101.0		
	6.113 1	7.242	13.457 4	101.4		

表 2(续)

成分 (component)	样品含量 (content)/mg	加入量 (added)/mg	测得值 (found)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
黄芩苷 (baicalin)	6.756 9	4.950 4	11.558 5	97.0	97.5	1.3
	6.756 9	4.950 4	11.487 8	95.6		
	6.756 9	4.950 4	11.601 2	97.9		
	6.756 9	6.188	12.875	98.9		
	6.756 9	6.188	12.747 5	96.8		
	6.756 9	6.188	12.714 2	96.3		
	6.756 9	7.425 6	14.055 1	98.3		
	6.756 9	7.425 6	13.989 1	97.4		
	6.756 9	7.425 6	14.154 7	99.6		
汉黄芩苷 (wogonoside)	1.666 5	1.321 6	2.928 4	95.5	96.6	1.4
	1.666 5	1.321 6	2.945 7	96.8		
	1.666 5	1.321 6	2.951 1	97.2		
	1.666 5	1.652	3.300 1	98.9		
	1.666 5	1.652	3.287 6	98.1		
	1.666 5	1.652	3.231	94.7		
	1.666 5	1.982 4	3.549 9	95.0		
	1.666 5	1.982 4	3.578 7	96.5		
	1.666 5	1.982 4	3.582 6	96.7		
甘草酸 (glycyrrhizic acid)	0.618 6	0.488 8	1.095 8	97.6	98.5	1.6
	0.618 6	0.488 8	1.116 2	101.8		
	0.618 6	0.488 8	1.102 6	99.0		
	0.618 6	0.611	1.207 1	96.3		
	0.618 6	0.611	1.215 8	97.74		
	0.618 6	0.611	1.216 3	97.8		
	0.618 6	0.733 2	1.334 7	97.7		
	0.618 6	0.733 2	1.341 4	98.6		
	0.618 6	0.733 2	1.352 6	100.1		
黄芩素 (baicalein)	0.583 86	0.472 8	1.039 8	96.4	98.1	1.5
	0.583 86	0.472 8	1.045 8	97.7		
	0.583 86	0.472 8	1.051 1	98.8		
	0.583 86	0.591	1.162 5	97.9		
	0.583 86	0.591	1.168 7	99.0		
	0.583 86	0.591	1.151 4	96.0		
	0.583 86	0.709 2	1.273 3	97.2		
	0.583 86	0.709 2	1.296 4	100.5		
	0.583 86	0.709 2	1.288 6	99.4		

表 2(续)

成分 (component)	样品含量 (content)/mg	加入量 (added)/mg	测得值 (found)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/%
绿原酸 (chlorogenic acid)	0.107 28	0.092	0.203	104.0	101.5	1.9
	0.107 28	0.092	0.202 1	103.1		
	0.107 28	0.092	0.199 4	100.1		
	0.107 28	0.115	0.226 4	103.6		
	0.107 28	0.115	0.224 1	101.6		
	0.107 28	0.115	0.222 7	100.4		
	0.107 28	0.138	0.245 7	100.3		
	0.107 28	0.138	0.242 9	98.3		
	0.107 28	0.138	0.248 7	102.5		

2.8 样品含量测定

取 3 批样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶

液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,外标法计算待测成分含量,结果见表 3。

表 3 栀芩清热合剂中 8 个成分的测定 (mg · mL⁻¹, n=3)

Tab. 3 Determination of eight components in Zhiqin Qingre mixture

批号 (lot No.)	京尼平苷酸 (geniposidic acid)	京尼平龙胆双糖苷 (baicalin)	京尼平苷 (wogonoside)	黄芩苷 (baicalein)	汉黄芩苷 (wogonin)	甘草酸 (glycyrrhizic acid)	黄芩素 (baicalein)	绿原酸 (chlorogenic acid)
150901	1.745 5	1.185 2	10.337 8	10.743 8	2.810 2	1.008 2	0.969 7	0.186 9
160702	1.768 7	1.123 6	10.128 3	11.421 9	2.676 1	0.998 9	0.970 2	0.179 2
170301	1.804 3	1.147 9	10.448 5	10.979 1	2.709 7	1.025 1	0.980 8	0.178 3

3 讨论

3.1 流动相的选择

由于栀芩清热合剂是《中国药典》2015 年版中新收录的中成药,测定其成分含量相关资料很少,在流动相的选择上,首先考察了药典中收录的方法^[1],乙腈-水(15:85)等度洗脱,待测组分不能全部出峰,由于测定的组分较多,等度洗脱较难实现分离,所以笔者接着测试了乙腈-磷酸水、甲醇-磷酸水 2 个溶剂系统梯度洗脱^[6-15],结果发现甲醇-磷酸水为流动相时,栀子中的几个待测组分京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷、绿原酸分离不好,与杂质峰重合。而采用乙腈-磷酸水梯度洗脱时,可以达到分离要求。

3.2 波长的选择

波长扫描得到绿原酸最大吸收波长为 327 nm,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素为 278 nm,甘草酸为 250 nm。本实验中,除绿原酸外,其余成分作者选取了 240 nm,能兼顾各个组分,色谱图特征性强,各组分的响应值较为均匀,具有良好的代表性。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 659
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 659

[2] 陈峻,徐华,陈小轩. HPLC 同时测定清肺抑火丸中 3 个苷类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 134
CHEN J, XU H, CHEN XX. Simultaneous determination of three chemical constituents in Qingfei Yihuo pills by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2013, 19(13): 134

[3] 赵阿华,高兴武. HPLC 法测定栀芩清热液中黄芩苷的含量[J]. 黑龙江医药, 2008, 21(4): 20
ZHAO AH, GAO XW. Determination of baicalin content in Zhiqin Qingre liquid by HPLC[J]. Heilongjiang Med J, 2008, 21(4): 20

[4] 任剑雄,潘梅英,肖慧,等. HPLC 法测定栀芩清热合剂中黄芩苷的含量[J]. 今日药学, 2011, 21(7): 426
REN JY, PAN MY, XIAO H, et al. Content determination of baicalin in Zhiqin Qingre mixture by HPLC[J]. Pharm Today, 2011, 21(7): 426

[5] 陶君,黄怀鹏. 栀芩清热软胶囊质量标准的研究[J]. 天津中医药, 2005, 22(4): 334
TAO J, HUANG HP. Qualitative criteria of Zhiqin Qingre malacotic capsules[J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2005, 22(4): 334

[6] 杨世艳,何兵,张燕. HPLC 同时测定银黄颗粒中 7 种有机酸及 4

- 种黄酮类成分[J]. 中草药, 2013, 44(3): 301
- YANG SY, HE B, ZHANG Y. Simultaneous determination of seven organic acids and four flavonoids in Yinhuang granules by HPLC[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2013, 44(3): 301
- [7] 郝乘仪, 张慧锋, 杨明慧. RP-HPLC 法同时测定小儿肺热咳喘颗粒中两种主要活性成分的含量[J]. 吉林医药学院学报, 2017, 38(1): 18
- HAO CY, ZHANG HF, YANG MH. Simultaneous determination of two main components of Xiao'er Feire Kechuan granules by RP-HPLC[J]. *J Jilin Med Coll*, 2017, 38(1): 18
- [8] 荆玉玲. 高效液相色谱法测定利咽口服液中药原酸的含量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(12): 175
- JING YL. Content determination of chlorogenic acid in Liyan oral liquid by HPLC[J]. *Evaluat Anal Drug-Use Hosp China*, 2016, 16(12): 175
- [9] 郝乘仪, 冯波, 郭淑英, 等. 黄连上清片中 9 种成分的 HPLC 波长切换法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(9): 995
- HAO CY, FENG B, GUO SY, *et al.* Determination of nine compounds in Huanglian Shangqing tablets by HPLC combined with wavelength switching method[J]. *Chin J Pharm*, 2015, 46(9): 995
- [10] 郭东晓, 林林, 汪冰, 等. HPLC 波长切换法同时测定抗感颗粒中 7 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(10): 1796
- GUO DX, LIN L, WANG B, *et al.* Simultaneous determination of the content of seven components in Kanggan granules by HPLC wavelength switching technology[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(10): 1796
- [11] 龙厚宁, 印酬, 孟小夏, 等. HPLC 同时测定炎热清软胶囊中栀子苷、黄芩苷和汉黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(6): 34
- LONG HN, YIN C, MENG XX, *et al.* Simultaneous determination of geniposide, baicalin and wogonoside in Yanreqing soft capsules by HPLC[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2016, 22(6): 34
- [12] 陈帅, 王磊, 高双, 等. HPLC-DAD 法同时测定加味逍遥丸中 8 种成分[J]. 中草药, 2016, 47(21): 3829
- CHEN S, WANG L, GAO S, *et al.* Simultaneous determination of eight components in Jiawei Xiaoyao pills by HPLC-DAD[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2016, 47(21): 3829
- [13] 蔡建明, 欧阳臻, 赵明, 等. HPLC 法同时测定参梅养胃颗粒中 4 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2391
- CAI JM, OU YANG Z, ZHAO M, *et al.* Simultaneous determination of four constituents in Shenmei Yangwei granules by HPLC[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2016, 38(11): 2391
- [14] 郭丽, 贾金艳, 李霞, 等. RP-HPLC 法同时测定强力天麻杜仲胶囊中 6 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1744
- GUO L, JIA JY, LI X, *et al.* Simultaneous determination of six constituents in Qiangli Tianma Duzhong capsules by RP-HPLC[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2016, 38(8): 1744
- [15] 张琳, 汪轩, 邢婧, 等. HPLC-DAD 同时测定左归丸药液中没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、马钱苷、阿魏酸含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1364
- ZHANG L, WANG X, XING J, *et al.* Simultaneous determination of gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, loganin and ferulic acid of herb liquor of Zuogui pills by HPLC[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(8): 1364

(本文于 2018 年 7 月 13 日修改回)