

双波长比值光谱法测定银黄口服液中绿原酸和黄芩苷含量

孙增先 李永溟 李瑞真 王奎兴 张骞峰(连云港 222002 江苏连云港市第一人民医院)

摘要 目的:应用双波长比值光谱法对银黄口服液中绿原酸和黄芩苷含量测定进行研究。方法:依据绿原酸和黄芩苷的比值光谱特征,选择 266 和 342nm 作为测定波长。结果:绿原酸线性范围 2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,回收率 98.9%,RSD 为 1.58%;黄芩苷线性范围 2~16 $\mu\text{g}/\text{ml}$,回收率 100.4%,RSD 为 1.32%。结论:本法为一种灵敏、准确和简便的分析方法,可在其他中药制剂中推广应用。
关键词 双波长比值光谱法;银黄口服液;绿原酸;黄芩苷

Determination of chlorogenic acid and baicalin in Yinhuang oral solution by dual wavelength ratio spectrometry

Sun Zengxian(Sun ZX), Li Yongming(Li YM), Li Ruizhen(Li RZ), *et al* (No. 1 Hospital of Lianyungang Jiangsu, Lianyungang 222002)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To determine of chlorogenic acid and baicalin in Yinhuang oral solution by dual wavelength ratio spectrometry. **METHODS:**With the feature of ratio spectrometry for chlorogenic acid and baicalin,266 and 342nm were chosen as their determination wavelengths. **RESULTS:**Linear range of chlorogenic acid and baicalin were 2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 2~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectively. The recovery of chlorogenic acid and baicalin rate were 98.9%(RSD=1.58%) and 100.4%(RSD=1.32%) respectively. **CONCLUSION:**As a precise, accurate and sample method, it could be spread to the assay of other traditional Chinese medicine products.

KEY WORDS dual wavelength ratio spectrometry, Yinhuang oral solution, chlorogenic acid, baicalin

银黄口服液具有清热解毒、抑菌消炎作用,主治上呼吸道感染、急性扁桃体炎、咽炎等症。由金银花、黄芩提取物加工精制而成。主含绿原酸(Chlorogenic acid)和黄芩苷(Baicalin),中国药典^[1]采用紫外分光光度法测定其含量。有采用高效液相色谱法测定其含量的报道^[2,3]。本文采用双波长比值光谱法^[4,5]测定银黄口服液中绿原酸和黄芩苷含量,操作简便,结果准确。

1 仪器与试剂

岛津 UV-260 型紫外可见分光光度计;752-C 型紫外可见分光光度计。绿原酸、黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所)。银黄口服液(山东鲁南制药厂)。其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品储备液的配制

精密称取绿原酸对照品 5mg,置 25ml 量瓶中,加水适量溶解并稀释至刻度,摇匀。精密称取黄芩苷 5mg,置 25ml 量瓶中,加乙醇适量置水浴上温热使溶解,冷至室温后加乙醇至刻度,摇匀。

2.2 比值光谱绘制及测定波长选择

精密吸取绿原酸、黄芩苷对照品储备液适量,分置 25ml 量瓶中,用 0.2mol/L 盐酸稀释至刻度并摇匀;以 0.2mol/L 盐酸作空白,在 200~400nm 波长范围内扫描,得到绿原酸和黄芩苷的吸收光谱,见图 1。计算波长 λ 处绿原酸吸收度对黄芩苷吸收度的比值 $R_{\text{绿}}$,以 $R_{\text{绿}}$ 对 λ 作图,得到绿原酸的比值光谱;同样,也可以得到黄芩苷的比值光谱,见图 2。由图 2 可知,绿原酸在 342nm 处有最大 R 值,在 266nm 处有最小 R 值;而黄芩苷与绿原酸相反,在 266nm 处有最大 R 值,342nm 处有最小 R 值;故选择 266 和 342nm 作为绿原酸和黄芩苷的测定波长。

2.3 标准曲线的绘制

精密吸取绿原酸和黄芩苷对照品储备液适量,分置 25ml 量瓶中,用 0.2mol/L 盐酸稀释至刻度并摇匀,作为标准参比溶液(绿原酸为 8.29 $\mu\text{g}/\text{ml}$,黄芩苷为 8.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。分别在 266 和 342nm 处测定吸收度。

分别精密吸取绿原酸和黄芩苷对照品储备液适量,用 0.2mol/L 盐酸稀释至一定浓度,制成含绿原酸和黄芩苷的系

表 1 回归方程

		A ₂₆₆		A ₃₄₂	
绿原酸标准参比溶液/8.29μg·ml ⁻¹ :		0.1140		0.3003	
黄芩苷标准参比溶液/8.12μg·ml ⁻¹ :		0.4098		0.1430	
绿原酸标准溶液/μg·ml ⁻¹	20.10	17.61	10.98	6.46	1.99
黄芩苷标准溶液/μg·ml ⁻¹	2.01	5.52	8.93	12.50	16.08
A ₂₆₆	0.3683	0.5123	0.5970	0.7150	0.8263
A ₃₄₂	0.7687	0.7473	0.5747	0.4817	0.3773
R _{黄266}	3.2307	4.4939	5.2368	6.2719	7.2482
R _{黄342}	2.5598	2.4885	1.9138	1.6041	1.2564
ΔR _黄	0.6709	2.0054	3.3230	4.6678	5.9918
R _{绿266}	0.8987	1.2501	1.4568	1.7448	2.0163
R _{绿342}	5.3755	5.2259	4.0189	3.3685	2.6385
ΔR _绿	4.4768	3.9758	2.5621	1.6237	0.6222
ΔR _绿 = 0.2125·C _绿 + 0.2238		r = 0.9999			
ΔR _黄 = 0.3788·C _黄 - 0.0804		r = 1			

注: $\Delta R_{\text{黄}} = R_{\text{黄}266} - R_{\text{黄}342} = \frac{A_{266}}{A_{\text{参}266}} - \frac{A_{342}}{A_{\text{参}342}} = \frac{A_{266}}{0.1140} - \frac{A_{342}}{0.3003}$;
 $\Delta R_{\text{绿}} = R_{\text{绿}342} - R_{\text{绿}266} = \frac{A_{342}}{A_{\text{参}342}} - \frac{A_{266}}{A_{\text{参}266}} = \frac{A_{342}}{0.1430} - \frac{A_{266}}{0.4098}$

2.4 回收试验

精密吸取已知含量的银黄口服液稀释液 4ml,绿原酸和黄芩苷对照品储备液适量,置 10ml 量瓶中,用 0.2mol/L 盐酸稀释至刻度并摇匀,制成含加入绿原酸浓度为 1.5,2.5,6.0,11.0 和 16.0μg/ml 和加入黄芩苷浓度为 2.5,5.0,7.0,9.0 和 11.0μg/ml 的系列溶液,按标准曲线项下方法测定,计算绿原酸和黄芩苷的加样回收率,结果见表 2。

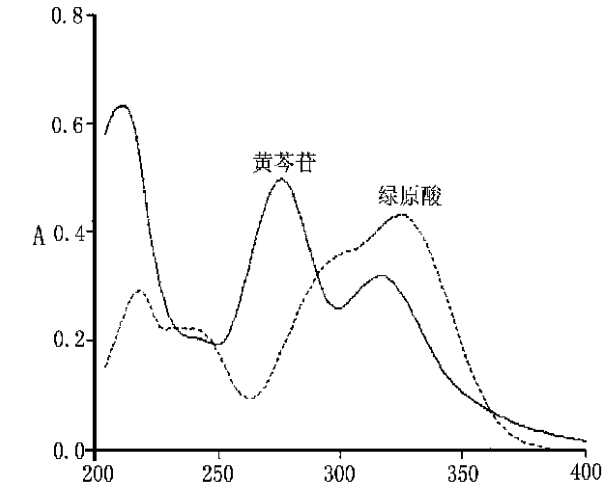


图 1 绿原酸和黄芩苷吸收光谱

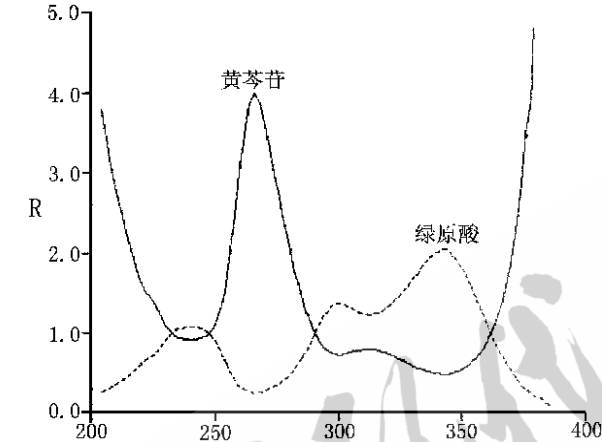


图 2 绿原酸和黄芩苷比值光谱

列混合标准溶液,分别在 266 和 342nm 处测定吸收度,计算 ΔR,以浓度 C 对 ΔR 作线性回归分析,得回归方程,见表 1。

表 2 回收率分析

编号	样品含量/μg·ml ⁻¹		加入量/μg·ml ⁻¹		检出量/μg·ml ⁻¹		回收率/%	
	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷	绿原酸	黄芩苷
1	2.07	5.09	15.99	2.53	17.79	7.71	98.31	103.16
2	2.07	5.09	10.93	5.05	12.89	10.14	98.99	100.00
3	2.07	5.09	5.99	6.99	7.97	12.07	98.50	99.86
4	2.07	5.09	2.51	9.05	4.56	14.20	99.20	100.66
5	2.07	5.09	1.46	10.95	3.57	15.97	102.74	99.36
6	0.56	1.34	15.95	2.50	16.46	3.81	99.69	98.80
7	0.56	1.34	10.98	5.00	11.44	6.33	99.09	98.80
8	0.56	1.34	5.97	6.98	6.42	8.38	98.16	100.86
9	0.56	1.34	2.49	8.93	2.98	10.38	97.19	101.23
10	0.56	1.34	1.49	10.88	2.01	12.35	97.32	101.19
平均回收率/%		绿原酸为 98.92 ± 1.56		黄芩苷为 100.39 ± 1.33				

2.5 重现性试验

精密吸取银黄口服液(批号 970307) 2ml,置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度并摇匀;再精密吸取上液 2ml,置 100ml 量瓶中,用 0.2mol/L 盐酸稀释至刻度并摇匀。在 266 和

342nm 处测吸收度,计算绿原酸和黄芩苷含量,平行试验 5 次,由结果计算出 RSD 分别为 0.51 %和 0.44 %。

2.6 样品测定

精密吸取银黄口服液 2ml,置 100ml 量瓶中,按 2.5 项下

操作测定绿原酸和黄芩苷含量,并与药典法比较,结果见表3。

表3 本法与药典法测定银黄口服液含量结果

批 号	绿原酸检出量/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$		黄芩苷检出量/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$	
	本 法	药典法	本 法	药典法
961108	10.73	11.23	26.38	25.88
970219	10.85	10.80	25.25	24.47
970307	11.40	11.82	23.63	23.67
980219	10.83	11.15	23.98	23.35

每 ml 银黄口服液中含绿原酸 $> 10.8 \text{ mg}$, 黄芩苷 $> 21.6 \text{ mg}$; $P > 0.05$

3 讨 论

高效液相色谱法^[2]对银黄口服液分析表明,银黄口服液中尚含 5~6 个在紫外区有吸收的未知成份,这些未被去除的组份对光谱法测定可能有一定影响,但这种影响能被接

受。且本法与药典法测定结果一致($P > 0.05$),表明双波长比值光谱法对共存组份的抗干扰能力,可进一步推广应用于其他中成药制剂的质量控制。

参考文献

- 1 中国药典.一部.1995: 594.
- 2 杨月春,戴其昌.高效液相色谱法测定银黄口服液中绿原酸和黄芩苷的含量.中国现代应用药学,1998,15(4): 54.
- 3 张华年,杨少芳,陈继业,等.HPLC 同时测定双黄连注射剂中氯原酸和黄芩苷 2 种指标成份含量.中国现代应用药学,1999,16(6): 47.
- 4 孙增先,谈恒山,李恭润,等.双波长比值光谱法测定复方磺胺甲噁唑片含量.中国医院药学杂志,1999,19(9): 536.
- 5 孙增先,谈恒山,李恭润,等.双波长比值光谱法测定安钠咖注射液含量.中国医院药学杂志,2000,20(1): 19.