

# 清开灵注射液生产过程中金银花提取液的在线质量控制方法研究

高晓燕, 李娜, 范强, 王耘, 乔延江\*

北京中医药大学中药学院, 北京 100102

**摘要** 为建立清开灵注射液生产过程中的中间体金银花提取液快速准确的在线质量控制方法, 通过对金银花提取液的 UV 原始光谱、一阶导数光谱进行波长点的数据筛选, 选择与 HPLC 法测得的绿原酸含量相关性最好的光谱类型和波长点进行建模, 建立绿原酸含量的 UV 预测方程。另取 10 批金银花提取液检验预测结果的可靠性。UV 原始光谱中最佳波长为 294 nm ( $r=0.9919, n=28$ ); 一阶导数光谱中最佳波长为 316 nm ( $r=0.9959, n=28$ )。绿原酸含量的预测方程为:  $c(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})=506.2543 \times A_{316 \text{ nm}}+0.1771$ 。经检验, 预测方程准确、可靠 ( $r=0.9971, n=10$ ), 可直接应用于在线检测。绿原酸含量的预测结果为: 约 90% 的金银花提取液中绿原酸含量分布为 0.4~4.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。此法简单、快速、准确, 可作为清开灵注射液生产过程中金银花提取液的在线质量控制方法。

**关键词** 清开灵; 在线质量控制; 紫外光谱

**中图分类号**: R284.1

**文献标识码**: A

**文章编号**: 1000-0593(2006)05-0904-04

## 引言

清开灵注射液由古方安宫牛黄丸经拆方改制而成, 其处方包括胆酸、猪胆酸和金银花等八味药。金银花为忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* thunb.) 的干燥花蕾或带初开的花, 具有清热解毒、凉散风热之功效<sup>[1]</sup>。金银花水提取液是清开灵注射液的生产过程中的中间体, 其主要有效成分为绿原酸。据临床报道, 绿原酸是清开灵注射液临床过敏反应的主要因素之一。因此, 有必要在清开灵注射液的生产过程中适时控制绿原酸的含量。目前报道的方法均不能满足在线检测的要求<sup>[2-4]</sup>。本文建立了金银花提取液中绿原酸含量的快速检测方法, 经 HPLC 法检验, 该检测方法准确、可靠, 可用于清开灵注射液生产过程中金银花提取液的在线质量控制。同时, 该方法也为注射液生产过程中的中间体在线质量控制提供了思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品与试剂

绿原酸对照品购自中国药品生物制品鉴定所 (批号: 110753-200212); 配制清开灵注射液的金银花提取液由指定药厂提供。甲醇为色谱纯, 购自 Fisher 公司, 甲酸为分析纯,

购自北京化学试剂厂。

### 1.2 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 包括: 四元泵、真空脱气泵、自动进样器、柱温箱、DAD 二极管阵列检测器、HP 数据处理工作站。HP-8453 紫外-可见分光光度仪。

### 1.3 测定方法

金银花提取液中绿原酸含量的 HPLC 法测定参考文献 [5] 方法进行。色谱图见图 1 (图 1 题目中的 ASFLJE 即为, Aqueous solution of flos *Lonicera japonicae* extraction)。

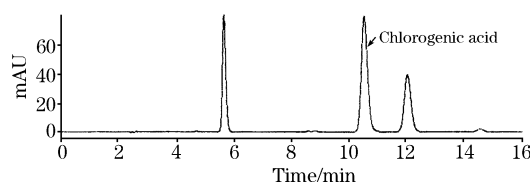


Fig. 1 Chromatograms of ASFLJE

## 2 实验结果

### 2.1 UV 预测方程的建立

#### 2.1.1 金银花提取液稀释倍数考察

取药厂提供的金银花提取液依次用水稀释 250, 500, 1 000, 2 000 倍, 进行 UV 光谱测定, 结果发现稀释 1 000 倍时金银花提取液的吸收度在 0.2~1.2 之间, 适合定量要求,

收稿日期: 2004-12-16, 修订日期: 2005-04-30

基金项目: 北京市科委重大项目 (H030230170130) 资助

作者简介: 高晓燕, 女, 1967 年生, 北京中医药大学 2003 级博士研究生

\* 通讯联系人

因此,选择稀释 1 000 倍的金银花提取液作为样品溶液。

### 2.1.2 光谱类型及检测波长的选择

绿原酸的 UV 原始光谱见图 2,金银花提取液的 UV 原始光谱见图 3,绿原酸的一阶导数光谱见图 4,金银花提取液的一阶导数光谱见图 5。从以上图谱可以看出,金银花提取液和绿原酸的紫外原始光谱有差异,而它们的一阶导数光谱形状相近。对金银花提取液的原始光谱和一阶导数光谱每隔 1 nm 的吸收度值和导数值与 HPLC 测得的同一样品溶液中的绿原酸的含量进行相关性分析(HPLC 测得的样品溶液中绿原酸的含量数据见表 2),结果如图 6 和图 7 所示。图 6 表明,UV 原始光谱中和 HPLC 测得的绿原酸含量相关性最好的波长点为 294 nm( $r=0.991\ 9, n=28$ );图 7 表明,一阶导数光谱中和 HPLC 测得的绿原酸含量相关性最好的波长点为 316 nm( $r=0.995\ 9, n=28$ )。比较发现,一阶导数光谱在

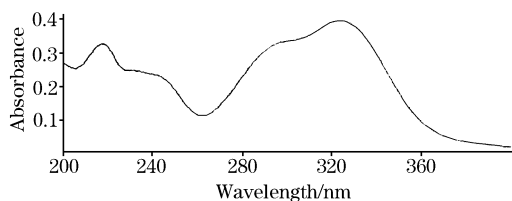


Fig. 2 UV spectrum of chlorogenic acid( $0.007\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

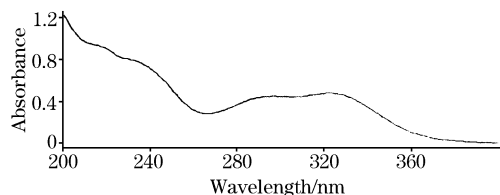


Fig. 3 UV spectrum of flos loniceræ japonicæ extraction diluted 1 000 times

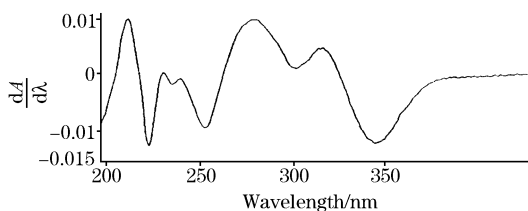


Fig. 4 UV first derivative spectrum of chlorogenic acid( $0.007\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

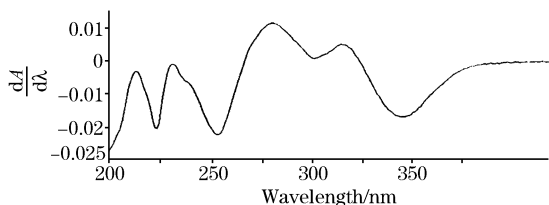


Fig. 5 UV first derivative spectrum of flos loniceræ japonicæ extraction diluted 1 000 times

316 nm 和 HPLC 测得的绿原酸含量相关性最好。因此,选择 316 nm 的一阶导数光谱值和 HPLC 测得的 28 批样品中绿原酸含量进行相关性分析,得到预测绿原酸含量的 UV 一阶导数光谱方程:绿原酸含量  $c(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}) = 506.254\ 3 \times A_{316\ \text{nm}} + 0.1771 (r=0.995\ 9, n=28)$ 。

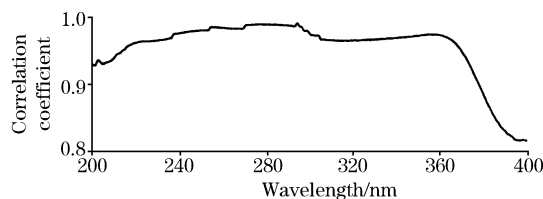


Fig. 6 The correlation coefficient of the content of chlorogenic acid determined by HPLC and the UV absorbance of different wavelength

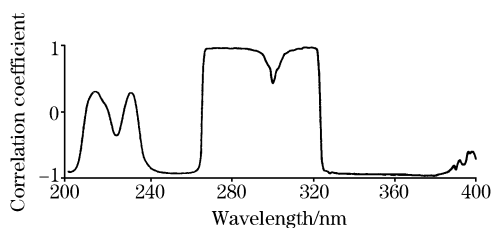


Fig. 7 The correlation coefficient of the content of chlorogenic acid determined by HPLC and the UV first derivative value of different wavelength

### 2.1.3 预测结果检验

取 10 批金银花提取液,分别用 HPLC 法和 UV 一阶导数光谱的预测方程进行绿原酸含量测定,结果见表 1。表 1 中数据表明,UV 预测结果同 HPLC 测定结果具有较好的一致性,预测方程准确、可靠,且同时满足快速、简便等在线检测的要求。

Table 1 Comparison of chlorogenic acid content determined by UV(first derivative spectrum) and HPLC

批号	绿原酸含量(HPLC) /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	绿原酸含量(UV) /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	偏差	相关系数
511105	2.36	2.37	0.01	
511204	1.56	1.48	-0.08	
511205	0.87	0.91	0.04	
511206	1.35	1.26	-0.09	
511305	2.31	2.35	0.04	0.997 1
511404	0.73	0.70	-0.03	
511406	1.03	1.01	-0.02	
511505	1.75	1.72	-0.03	
511804	1.55	1.53	-0.02	
511807	1.83	1.85	0.02	

## 2.2 样品测定及金银花提取液中绿原酸含量范围的确定

### 2.2.1 28 批生产样品溶液的 HPLC 法及 UV 法测定结果

对 28 批样品分别用 HPLC 法和 UV 一阶导数法进行了快速定量,结果见表 2。

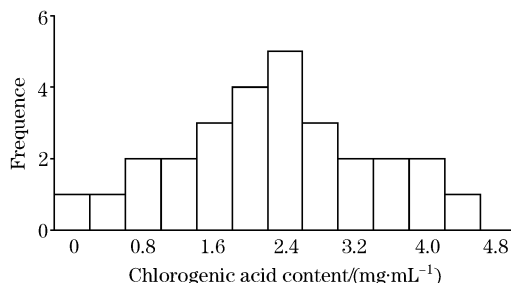
**Table 2 Results of chlorogenic acid content in 28 batches of aqueous solution of flos lonicerae japonicae extraction determined by HPLC and UV**

批号	绿原酸含量(HPLC) /(mg·mL <sup>-1</sup> )	金银花液稀释 1 000 倍 316 nm 一阶导数值	绿原酸含量(UV) /(mg·mL <sup>-1</sup> )
511101	2.49	0.004 783	2.59
511102	2.30	0.003 784	2.09
511103	2.77	0.005 032	2.72
511201	1.56	0.002 369	1.37
511202	1.47	0.002 606	1.49
511203	1.02	0.001 718	1.04
511301	2.62	0.004 830	2.62
511302	2.62	0.004 854	2.63
511303	2.74	0.005 167	2.79
511401	0.38	0.000 388	0.37
511402	0.88	0.001 493	0.93
511403	0.51	0.000 667	0.51
511501	2.04	0.003 742	2.07
511502	2.00	0.003 985	2.19
511503	1.99	0.003 870	2.13
511601	3.52	0.006 544	3.49
511602	3.82	0.007 249	3.84
511603	3.42	0.006 158	3.29
511701	4.50	0.008 431	4.44
511702	4.08	0.007 881	4.16
511801	1.73	0.003 314	1.85
511802	1.83	0.003 048	1.72
511803	2.22	0.003 565	1.98
511901	2.91	0.005 478	2.95
511902	2.88	0.005 347	2.88
511903	3.20	0.006 049	3.23
512001	4.25	0.008 144	4.30
512002	3.93	0.007 156	3.80

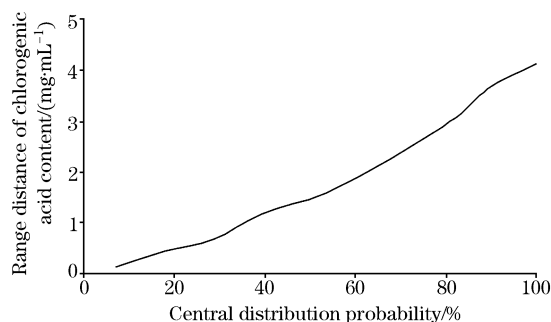
### 2.2.2 金银花提取液中绿原酸的含量范围确定

根据 28 批金银花提取液中绿原酸的含量 UV 预测值(结果见表 2), 绘出了绿原酸含量频数分布的直方图(见图 8)。根据表 2 数据及绿原酸含量分布直方图可以得到绿原酸含量范围间距—中心分布概率相关曲线(见图 9), 图中横坐标代表 28 批金银花液中绿原酸频数分布直方图中心分布概率, 纵坐标代表相应的绿原酸含量范围间距, 即在此分布概率下的最大与最小绿原酸含量之差, 曲线上斜率最小处所对应的中心分布概率为最佳中心分布概率, 为 20%和 90%。考虑到

20%所覆盖的样品数过少, 因此选 90%为最佳中心分布概率, 则金银花提取液中绿原酸含量范围为 0.4~4.0 mg·mL<sup>-1</sup>。



**Fig. 8 Vertical square figure of chlorogenic acid content frequency distribution**



**Fig. 9 Correlative curve between the range of chlorogenic acid content and center distribution probability**

## 3 讨论

应用 UV 法对复方西药中成分的直接定量曾有报道<sup>[6]</sup>, 对中药提取物中有效成分的直接定量的研究未见报道。本研究通过 HPLC 法测得的准确含量与 UV 原始光谱及其一阶导数值的相关性分析, 建立了清开灵生产中绿原酸含量的在线检测方法。通过对 28 批金银花提取液中绿原酸的含量测定, 绘出了金银花液中绿原酸含量分布范围的直方图, 为金银花液的质量判断提供了依据。本文所建立的绿原酸含量的 UV 测定方法可实现金银花液中绿原酸快速、准确的在线定量, 达到了以绿原酸为判断标准的金银花液在线质量控制的要求。该方法为其他注射液生产过程中的中间体的在线质量控制提供了借鉴。

## 参 考 文 献

- [1] Pharmacopoeia Committee of Ministry of Health of the People's Republic of China(中华人民共和国药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Vol. 1(中国药典, 一部). 2005. 173.
- [2] XUN Ya-shu, WU Jing, SHI Yan(荀雅书, 吴敬, 石研). Acta Acad. Med. Neimongol(内蒙古医学院学报), 1999, 21(4): 254.
- [3] WANG Jing-hui, JIN Hong-yu, YOU Li-hua, et al(王京辉, 金红宇, 尤立华, 等). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2003, 28(8): 777.
- [4] CAO Min, JI Yi-bing, CHEN Yu-ying(曹敏, 季一兵, 陈玉英). Journal of China Pharmaceutical University(中国药科大学学报), 2002, 33(4): 284.
- [5] LI Na, GAO Xiao-yan, FAN Qiang(李娜, 高晓燕, 范强). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志). in press (待发表).
- [6] SUN Zeng-xian, ZHANG Qian-feng, ZHOU Jin-yu(孙增先, 张蹇峰, 周金玉). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(7): 883.

## Study on the Method of Rapid Quality Control of Aqueous Solution of Flos Lonicerae Japonicae Extraction in the Preparation of Qingkailing Injection

GAO Xiao-yan, LI Na, FAN Qiang, WANG Yun, QIAO Yan-jiang\*  
Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China

**Abstract** To establish a rapid and accurate on-line quality control method for aqueous solution of Flos Lonicerae Japonicae extraction (ASFLJE) in the preparation of Qingkailing injection, the wavelength of UV original spectrum and its first derivative spectrum of ASFLJE were scanned. The most suitable spectrum type and wavelength correlated with the chlorogenic acid content in ASFLJE determined by RP-HPLC were chosen to build a regress model. The UV equation for predicting chlorogenic acid content in ASFLJE was established. Other 10 batches of ASFLJE were used for testing the on-line prediction results by comparison of the values of chlorogenic acid content determined by HPLC and predicting equation respectively. The most suitable wavelengths correlated with chlorogenic acid content were 294 nm ( $r=0.9919$ ,  $n=28$ ) in the original UV spectrum and 316 nm ( $r=0.9959$ ,  $n=28$ ) in the first derivative spectrum respectively. The predicting equation of chlorogenic acid content was:  $c(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})=506.2543 \times A_{316\text{nm}} + 0.1771$  ( $r=0.9959$ ,  $n=28$ ). This predicting equation is credible and accurate, as tested by HPLC method ( $r=0.9915$ ,  $n=10$ ). The prediction results of chlorogenic acid content were: the chlorogenic acid content in probable 90 percent ASFLJE was: 0.4-4.0 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). This method is rapid, simple and accurate, and can be used for the on-line quality control of ASFLJE in Qingkailing injection preparation.

**Keywords** Qingkailing; On-line quality control; UV spectrum

(Received Dec. 16, 2004; accepted Apr. 30, 2005)

\* Corresponding author