

高效液相色谱法对连翘及双黄连片中连翘苷的定量分析

韩桂茹 赵志军 徐韧柳(石家庄 050011 河北省药品检验所)

摘要 目的:探讨连翘和双黄连制剂中连翘苷的含量测定方法,控制其质量。方法:采用 HPLC 法,以 C₁₈-ODS 为色谱柱,乙腈—水(25:75)为流动相,检测波长为 205nm,流速 1.0ml/min,采用面积外标法计算。结果:线性范围 0.0312-0.156μg, r=0.9999,连翘平均回收率为 98.49%(RSD=0.38%),双黄连片平均回收率为 99.63%(RSD=0.34%)。结论:本方法简便易行,结果准确,可有效控制生药及其制剂的质量。

关键词 连翘;双黄连片;连翘苷;HPLC

Quantitative Analysis of Forsythin in Fructus Forsythiae and Shuanghuanglian Tablet by HPLC

Han Guiru (Han GR) , Zhao Zhijun (Zhao ZJ) , Xu Renliu (Xu RL) (Hebei Provincial institute for drug control , Shijiazhuang 050011)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To develop a method for the determination of forsyth in Fructus Forsythiae and Shuanghuanglian tablet and other types of Shuanghuanglian preparations. **METHOD:**HPLC method was selected to determine the content. The analysis column is C₁₈-ODS (4.6mm×250mm,5μm). The mobile phase is acetonitrile-water(25:75). The detection wavelength is 205nm. The flowing rate is 1.0 ml/min. **RESULTS:**The method was linear in the rang of 0.0312-0.156μg, r=0.9999. The average recoveries of Fructus Forsythiae and Shuanghuanglian tablet were 98.49% (RSD=0.38%) and 99.63%(RSD=0.34%), respectively. **CONCLUSION:**This method was simple and reliable and can be used for the quality control for Fructus Forsythiae and its preparations.

KEY WORDS Fructus Forsythiae , Shuanghuanglian tablet , forsyth in , HPLC

双黄连制剂由金银花、黄芩和连翘组成,主要成分为绿原酸、黄芩苷和连翘苷等,由于对外感风热引起的发热、咳嗽、咽痛等症疗效确切,致使其剂型众多,有片剂、胶囊剂、口服液、颗粒剂、粉针剂等等,现行质量标准中定量指标多数只有黄芩苷,双黄连制剂中连翘有效成分的含量测定报道较少^[1],为了进一步控制产品质量,采用 HPLC 法分别测定了原料药材连翘、制剂双黄连片和双黄连胶囊中连翘苷的含量。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪:日本岛津 LC-10ADvp 泵;SPD-M10Avp 二极管阵列检测器;CLASS-VP/LC 色谱工作站。

中国现代应用药学杂志 2002 年 6 月第 19 卷第 3 期

美国 7725 手动进样器(定量管 20μl)。

连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所);乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:岛津 Shim-Pack VP-ODS C₁₈ 柱(5μm,4.6mm×150mm);检测波长:205nm;流动相:乙腈—水(25:75);流速:1.0ml/min;柱温:室温。理论板数按连翘苷峰计算不低于 5000。HPLC 色谱分离情况见图 1。

2.2 连翘苷标准曲线的制备 精密称取连翘苷对照品加 50%甲醇分别配制浓度为 1.56,3.12,4.68,6.24 和 7.80μg/ml 的溶液。取上述溶液 20μl 进样,按上述色谱条件

测定,结果连翘苷在 1.56—7.80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内峰面积 (Y) 与浓度 (X) 之间呈线性关系,其回归方程为 $Y = 317533397X + 28803$, ($r = 0.9999$)。线性范围 0.0312-0.156 μg 。

2.3 稳定性试验 取同一连翘苷对照品溶液分别间隔一定时间进样一次,共考察 24h,对照品峰面积在 24h 内基本不变,RSD 为 0.44%。

2.4 精密度试验 取某一连翘苷对照品溶液和供试品溶液分别重复进样 5 次,测定峰面积,对照品峰面积的 RSD 为 0.25% ($n = 5$),供试品峰面积的 RSD 为 1.41% ($n = 5$)。

2.5 加样回收试验 准确称取已测得连翘苷含量的同一批样品 5 份分别加入适量的连翘苷对照品,照样品测定项下方法测定,计算回收率。连翘药材平均回收率 98.49%,RSD 为 0.38% ($n = 5$),双黄连片平均回收率 99.63%,RSD 为 0.34% ($n = 5$)。

2.6 重现性试验 同一批号样品分别取样 5 份,照样品测定项下方法操作,测定,计算含量。连翘药材平均含量为 0.156%,RSD 为 1.19% ($n = 5$),双黄连片平均含量为 0.714 mg/片,RSD 为 1.34% ($n = 5$)。

2.7 连翘药材的处理和含量测定 取连翘粉末(过 50 目筛)约 0.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加 50% 甲醇 25 ml,密塞,称定重量,回流提取 30 min,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 3 ml,水浴上蒸干,残渣用 50% 甲醇溶解,转移至 25 ml 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过,续滤液作为供试品溶液。

精密称取连翘对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 ml 含 4 μg 的溶液作为对照品溶液。

分别吸取对照品溶液与供试品溶液 20 μl ,注入液相色谱仪,测得连翘苷含量,结果见表 1。

表 1 药材中连翘苷的含量测定结果

批次	连翘苷含量(%)
1	0.214
2	0.176
3	0.078

2.8 双黄连片的处理和含量测定

取双黄连片 10 片,精密称定,研细(过 50 目筛),取约 0.2g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 ml,密塞,称定重量,超声处理 10 min,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 3 ml,置 10 ml 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜

(0.45 μm) 滤过,续滤液作为供试品溶液。对照品溶液的制备同上。分别取 20 μl 进样测定。测得连翘苷含量见表 2。

双黄连胶囊制法与双黄连片基本相同,照双黄连片含量测定方法进行了连翘苷含量测定,结果见表 2。

表 2 制剂中连翘苷的含量测定结果

样品名称	生产厂家	批号	连翘苷含量[mg/ 片(粒)]
双黄连片	甲厂	000312	0.696
双黄连片	甲厂	000314	0.724
双黄连胶囊	乙厂	990101	1.076
双黄连胶囊	乙厂	990102	1.020
双黄连胶囊	乙厂	990501	0.968

自制双黄连片与双黄连胶囊连翘阴性样品,制成连翘阴性对照液,与供试品溶液和连翘苷对照品溶液分别注入液相色谱仪,供试品与对照品相应位置上有相应的吸收峰,而连翘阴性对照在相应位置上无吸收峰,说明其它成分不干扰连翘苷测定,方法具有专属性。

3 讨论

中国药典^[2]和文献^[3]中连翘药材甲醇超声处理提取后,要用氧化铝柱除杂制备供试品溶液,操作步骤较长,影响因素多,现报道方法供试品溶液的制备用 50% 甲醇提取即可,不需上柱,操作简便,分离效果良好。提取液定量稀释一步,连翘药材要蒸干后,再溶解定容,以除去有可能一起提取出来的油脂,双黄连制剂直接稀释即可。

连翘苷 HPLC 法测定波长一般为 277nm^[2,3],经对连翘苷进行紫外区光谱扫描,表明连翘苷除了在 277nm 处有吸收峰外,在 228nm 和 205nm 还有吸收峰,吸收强度均大于 277nm 处,现选用吸收强度最高的 205nm 为测定波长,提高了待测成分的检测灵敏度,降低了待测成分的进样量,“杂质”成分的进入同时减少,使色谱柱的载样量降低,利于色谱柱的保护。

双黄连片中连翘苷的含量测定方法,简便易行,结果准确,可供其它固体双黄连制剂借鉴。

所测双黄连制剂中连翘苷的含量差异较大,这可能与制备工艺和所用原料连翘药材的质量有关。

参考文献

- 1 刘杰,陈卓,马开. 薄层扫描法测定双黄连制剂中连翘苷的含量. 中成药,1999,21(8):394.
- 2 中国药典. 一部. 2000:135.
- 3 张炜,张汉明,郭美丽. HPLC 法测定连翘药材及感冒退热颗粒中连翘苷的含量. 中成药,1999,21(9):452.

收稿日期:2000 - 11 - 22