

高效液相色谱法测定清热灵口服液中连翘苷的含量

陈 仙 朱利敏 廖明进(义乌 322000 浙江大德制药有限公司)

摘要 目的:建立 RP-HPLC 法测定清热灵口服液中连翘苷的含量。方法:固定相为 Hypersil ODS 柱,流动相为甲醇-水-磷酸(31:19:0.1),检测波长为 277nm。结果:线性范围 $0.44\mu\text{g} - 4.44\mu\text{g}$, $r = 1.0000$, 平均回收率为 98.95%, $\text{RSD} = 0.68\%$ ($n=5$)。结论:本方法简便易行,结果准确,可有效控制该制剂的质量。

关键词 清热灵口服液;连翘苷;高效液相色谱法

Determination of Forsythin in Qingleling oral solution by HPLC

Chen Xian, Zhu Liming, Liao Mingjing(Zhejiang Dade pharmaceutical Co. Ltd. Yewu 322000)

ABSTRACT OBJECTIVE: A RP-HPLC method was established for the determination of forsythin in Qingleling oral solution. **METHOD:** The Hypersil ODS column was used. The mobile phase was consisted of methanol-water-phosphoric acid (31:19:0.1). The detection wavelength was 277nm. **RESULTS:** The linear concentration was within the range of 0.44 μ g—4.44 μ g($r=1.0000$), and the average recovery was 98.95% (RSD=0.68%). **CONCLUSION:** This method was simple and reliable and can be used for the quality control for its preparations.

KEY WORDS Qingleling oral, solution Forsythin, HPLC

清热灵口服液由连翘,麦冬,板蓝根等10味中药制成的中药制剂,具有清热祛湿,凉血解毒作用,用于流感、腮腺炎等疾患,连翘为该制剂的主成份之一,连翘苷是其有效成分,连翘苷化学性质稳定,在277nm紫外区有最大吸收,重现性好。含量测定方法有薄层色谱法^[1],及高效液相色谱法^[2,3,4]。本文采用高效液相色谱法测定清热灵口服液中连翘苷的含量。

1 仪器和试剂

HP1100 系统,二极管阵列检测器;美国7725手动进样器(定量管20 μ l);数据采集,处理由HP Chem station完成;连翘苷对照品由中国药品生物制品鉴定所提供(供含量测定用);甲醇:色谱纯;磷酸:分析纯;水:过滤重蒸馏水;清热灵口服液及阴性对照品(去掉处方中的连翘后,照生产工艺制备得到的清热灵口服液)由本公司自制。

2 色谱条件

流动相:甲醇—水—磷酸(31:19:0.1),固定相: Hypersil ODS 柱, 5 μ m, 4 $\times$ 250mm 检测波长: 277 nm, 进样量10 μ l,测定温度:室温,流速: 1ml/min。

3 测定波长的确定

样品中所测成分色谱峰与连翘苷对照品色谱峰200—400 nm紫外光谱比较,相似度为1.00,从紫外图谱中可以看出,连翘苷在277 nm处有最大吸收,因此选277nm作检测波长,光谱图见图1。

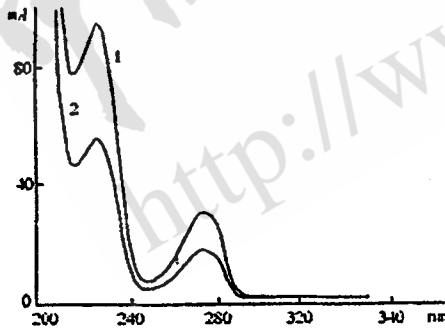


图1 样品测定成分与对照品色谱峰紫外光谱

1. 连翘苷 2. 样品

4 标准曲线的建立

精密称取(经五氧化二磷干燥48h后)的连翘苷对照品22.2mg置25ml容量瓶中用甲醇溶解后定溶成(888.0 μ g/ml)分别精密量取该标准液适量稀释成含连翘苷为44.4 μ g/ml、88.8 μ g/ml、177.6 μ g/ml、266.4 μ g/ml、444.0 μ g/ml的标准浓度,分别取上述标准液10 μ l进样,以峰面积对标准品的浓度作图,结果显示在0.44 μ g—4.44 μ g范围内,连翘苷的

峰面积与浓度呈良好的线性关系,回归方程为 $Y=633.89X-12.83$, $r=1.0000$ 。

5 稳定性试验

取同一连翘苷对照品溶液分别间隔0、2、4、8、24h进行考察,对照品峰面积的RSD为1.12%($n=5$)

6 精密度试验

取同一连翘苷对照品溶液和供试品溶液分别进样5次,测定峰面积,对照品峰面积的RSD为0.77%,供试品峰面积的RSD为1.05%。

7 样品的测定

精密量取清热灵口服液10ml,6份(6批),分别加入氯仿30ml,萃取3次,合并氯仿液,加入10%氨水20ml,洗涤2次,取氨仿液水浴蒸干,残渣用氯仿溶解,转移至尖底管中,水浴蒸干,加入50%甲醇2ml溶解,作为供试品液,以10 μ l进样,测定连翘苷含量,结果清热灵口服液平均含量为21.4 μ g/ml,色谱图见图2,结果见表1。

表1 样品中连翘苷含量测定的结果

批号	连翘苷含量 μ g/ml	批号	连翘苷含量 μ g/ml
020501	20.3	020504	22.3
020502	20.9	020505	22.1
020503	21.5	020506	21.3

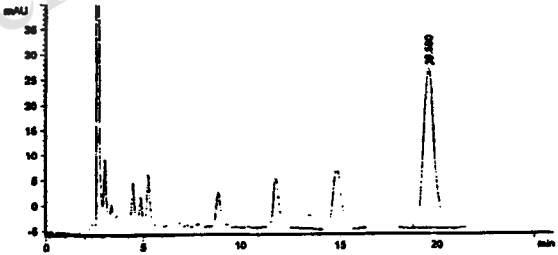


图2 样品液相色谱图

8 加样回收试验

精密吸取已知连翘苷含量的清热灵口服液10 ml,精确加入浓度为88.8 μ g/ml连翘苷对照品溶液0.5、0.8、1.0、1.5、2.0ml,同样品一样进行处理,方法同上,测定连翘苷的含量,结果平均回收率为97.95%,RSD为0.68%($n=5$).图谱图见图3,见表2。

表2 回收率测定结果

样品的原有量 μ g	加入量 μ g	测得量 μ g	回收量 μ g	回收率 %	平均回收率 %
221.10	44.40	264.98	43.88	98.83	
221.10	71.04	291.25	70.15	98.75	98.95
221.10	88.80	310.02	88.92	100.14	RSD=0.68

样品的原有量	加入量	测得量	回收量	回收率	平均回收率
μg	μg	μg	μg	%	%
221.10	133.20	352.44	131.34	98.60	$n=5$
221.10	177.60	395.95	174.85	98.45	

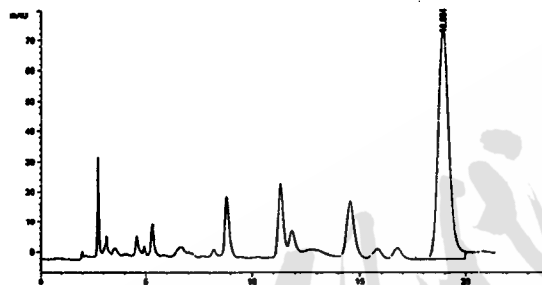


图3 加样回收样品液相色谱图

9 阴性对照试验

取缺连翘样品,同上操作,结果在上述色谱条件下,在连翘苷出峰处无干扰峰出现。色谱图见图4。

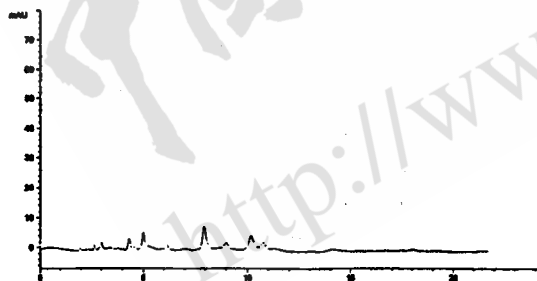


图4 阴性对照样品液相色谱图

10 流动相比比例优化

我们比较了几个不同流动相比对比对连翘苷分离效果的影响,发现甲醇比例大,出峰快,但与其他杂质分离不好,甲醇比例小,分离效果好,但峰形平坦,出峰慢,而当比例为19:31:0.1,既能使连翘苷与其他杂质有效地分离,又有较好的峰形。故采用流动相为甲醇-水-磷酸(19:31:0.1)

11 结论

通过对 HPLC 法测定清热灵口服液中含连翘苷的方法学考察,表明方法稳定,重现性好,快速灵敏,可作为清热灵口服液产品质量检验的一个定量方法。

参考文献

- 1 李领,宋卫中,刘庆芳,王青松.薄层扫描法测定双黄连片中连翘苷的含量.中国药理学杂志.2001,36(1):52.
- 2 张国刚,徐绥绪.高效液相色谱法测定抗病毒口服液中连翘苷含量.中草药,1998,29(3):162.
- 3 莫志江,莫志元.RP-HPLC法测定抗病毒口服液中连翘苷含量.西北药理学杂志,2000,15(4):147-148.
- 4 中国药典.一部.2000:135.

收稿日期:2002-07-20