

反相高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中连翘苷含量

熊胜元 李洪刚 李洪斌

(重庆市涪陵区药品检验所 重庆 涪陵 408000)

中图分类号 R927.2 R285.1 文献标识码 A 文章编号 1006-4931(2004)06-0042-01

摘要 **目的** 建立测定银翘解毒颗粒中连翘苷的高效液相色谱分析方法。**方法** 以 Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)为色谱柱,乙腈-水(25:75)为流动相,检测波长为 277 nm,流速为 1.0 mL/min,柱温为 25℃。**结果** 样品中连翘苷得到了很好分离。连翘苷进样量在 0.2~2.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系,回归方程为 $Y=558.59X-1.683$, $r=0.9997$,回收率为 98.77%,RSD 为 0.64%。**结论** 反相高效液相色谱法简便、快速、灵敏、准确,重现性好,可用于银翘解毒颗粒中连翘苷的含量测定和质量控制。

关键词 高效液相色谱法 银翘解毒颗粒 连翘苷 含量测定

银翘解毒颗粒是由金银花、连翘、薄荷、荆芥、淡豆豉、牛蒡子、桔梗、淡竹叶、甘草等 9 味中药材制成的中药成方制剂,具有辛凉解表、清热解毒的功效,用于治疗风热感冒、发热头痛、咳嗽、口干、咽喉疼痛等症。2000 年版《中国药典》未制订该品种的含量测定指标^[1],笔者以处方中的君药连翘为研究对象,采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC 法)测定制剂中连翘苷的含量来控制质量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,二极管阵列检测器,化学工作站,柱温箱。

连翘苷对照品(批号 X0821-200104,中国药品生物制品检定所);银翘解毒颗粒(规格:15 g/袋,批号:0301003,0304002,

0306001,0304003,030006,太极集团重庆桐君阁药厂);试剂甲醇、乙腈均为色谱纯,其余为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(25:75);流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL;检测波长:277 nm;柱温:25℃;理论塔板数按连翘苷计算为 6 890。

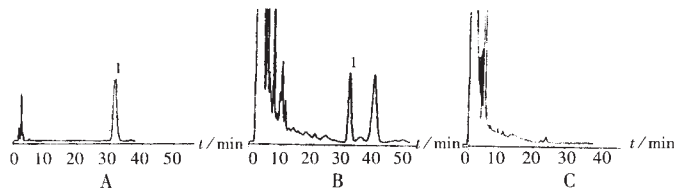
2.2 线性关系考察

精密称取连翘苷对照品 20 mg,置 50 mL 量瓶中,用 50% 甲醇定容至刻度,摇匀。精密吸取 0.5,1.0,2.0,3.0,5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,用 50% 甲醇定容至刻度,摇匀即得每 1 mL 含

回收率,结果见表 1。

表 1 熊果酸加样回收率试验(n=6)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.518	0.250	0.761	100.07	1.81
0.518	0.250	0.766		
0.574	0.250	0.827		
0.574	0.250	0.830		
0.604	0.250	0.853		
0.604	0.250	0.856		



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

1. 熊果酸

图 1 HPLC 图

2.4 线性关系考察

精密吸取熊果酸对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL 5 份,分别置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件分别进样 10 μL(每份重复进样 2 次),测得平均峰面积。以平均峰面积为纵坐标,以对应的浓度为横坐标,绘制标准曲线图,并求得线性回归方程为 $Y=7341+394262X$, $r=0.9991$ ($n=6$)。熊果酸浓度在 20~100 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

2.5 重现性试验

将同一样品称取 5 份,分别按供试品溶液制备方法操作,制备各样品溶液。分别精密吸取样品溶液 10 μL 进样,在上述色谱条件下进行测定,结果 RSD 为 2.17%。

2.6 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL 进样(重复进样 5 次),测得平均峰面积为 $A=31021.7$,RSD 为 1.67%。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液和对照品溶液各 10 μL,于 0,2,4,8,12 h 分别进样 2 次,计算日内 RSD,分别为 1.21%和 0.93%。再于第 1,2,3,4 天分别进样 2 次,计算日间 RSD,分别为 1.95%和 1.31%。

2.8 回收率试验

取样品 2 g,精密称定,置索氏提取器中,精密加入对照品 0.25 mg(或对照品溶液 0.25 mL),依法测定熊果酸的含量,并计算

2.9 样品含量测定

取样品 3 批,按供试品溶液制备方法操作,制备样品溶液。精密吸取样品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测得熊果酸的峰面积,根据回归方程,求得样品中熊果酸的含量,结果见表 2。

表 2 六味地黄胶囊中熊果酸的含量

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
021213	0.259	1.97
030411	0.302	2.23
030413	0.287	2.01

3 讨论

3.1 选择 220 nm 作为测定波长,既利用了组分仅有的紫外末端吸收,又减小了溶剂的短波吸收干扰。溶剂甲醇截止吸收波长为 205 nm,而熊果酸的最大吸收波长为 210 nm 左右,在 220 nm 波长以上几乎没有吸收。

3.2 提取时选用乙醚回流提取至无色,目的是排除脂溶性成分的干扰,再用甲醇溶解,既提取了有效成分,又排除了其他成分干扰,方法简便可行。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000 332.

(收稿日期 2004-02-29,修回日期 2004-05-14)

20, 40, 80, 120, 200 μg 的对照品溶液, 分别精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标绘制标准曲线, 计算, 回归方程为 $Y = 558.59X - 1.683$, $r = 0.9997$ 。试验结果表明, 连翘苷在 0.2 ~ 2.0 μg 范围内呈良好线性关系。对照品溶液色谱图见图 1 A。

2.3 含量测定方法

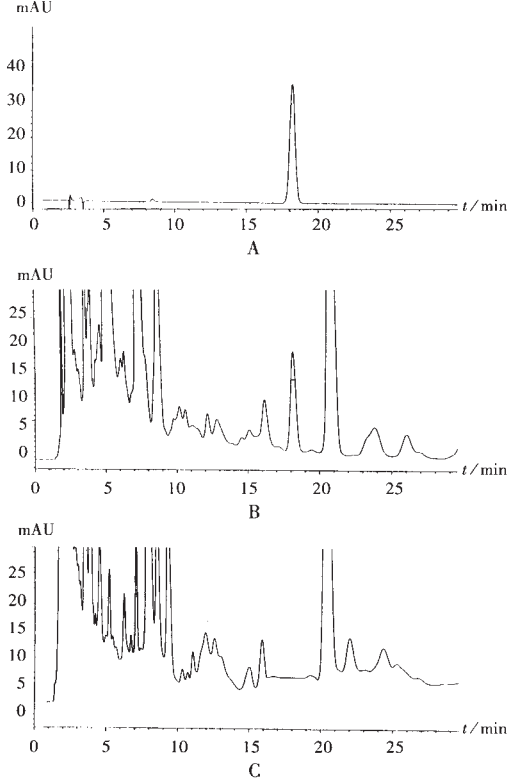
对照品溶液的制备: 精密称取连翘苷对照品适量, 用 50% 甲醇配制成 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 摇匀, 即得。

供试品溶液的制备: 取供试品, 研细, 精密称取 5 g 置 50 mL 量瓶中, 加入 90% 乙醇 45 mL, 超声处理 (功率 350 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 加 90% 的乙醇至刻度, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加 50% 甲醇适量使溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

测定法: 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪, 用外标法计算。供试品溶液色谱图见图 1 B。

2.4 阴性对照试验

按处方比例及规定制法自制不含连翘的阴性对照品并配成阴性对照品溶液, 按 2.3 项下方法测定, 结果在连翘苷峰的保留时间处未见干扰峰。阴性对照品溶液色谱图见图 1 C。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图 1 HPLC 图

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 测定其峰面积。结果 $RSD = 0.71\%$ ($n = 6$)。

2.6 重现性试验

取同一批样品 (批号为 0301003) 5 份, 按 2.3 项下方法测定, 连翘苷的平均含量为 2.750 $\text{mg}/\text{袋}$, $RSD = 0.73\%$ 。

2.7 稳定性试验

取同一批样品 (批号为 0304002), 按 2.3 项下方法, 分别在制备好样品溶液后的 0, 4, 8, 12, 18, 24 h 测定, 测得样品的平均含量为 2.738 $\text{mg}/\text{袋}$, $RSD = 0.55\%$ 。表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收试验

称取已知连翘苷含量的银翘解毒颗粒样品 6 份, 精密加入连翘苷对照品, 按 2.3 项下方法测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.760 0	1.746 5	99.23		
1.760 0	1.738 5	98.78		
2.200 0	2.167 5	98.52	98.77	0.64
2.200 0	2.155 6	97.98		
2.640 0	2.596 7	98.36		
2.640 0	2.633 4	99.75		

2.9 样品测定

取样品 5 批, 按 2.3 项下方法测定, 计算连翘苷的含量, 结果见表 2。

表 2 样品中连翘苷含量测定结果

批号	连翘苷含量 (mg/袋)
0301003	2.750
0304002	2.738
0306001	2.745
0304003	2.752
030006	2.696

3 讨论

曾用 50%, 70%, 90%, 95% 共 4 种浓度的乙醇分别提取样品中的连翘苷^[2], 结果以 90% 乙醇并经超声处理对连翘苷的提取较完全。

在试验中对流动相为水-乙腈-冰醋酸 (75:25:0.1)、甲醇-乙腈-水 (20:15:65)、乙腈-水 (25:75)、乙腈-水 (21:79) 等系统进行了比较试验^[3], 结果乙腈-水 (25:75) 对连翘苷的分离效果最好。

笔者所建立的方法具有简便、准确、重现性好的特点, 可用于银翘解毒颗粒中连翘苷的含量测定。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 135-136.
[2] 杨永钢, 孙国祥, 万月生. 反相高效液相色谱法测定抗病毒胶囊中连翘苷含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(2): 116-118.
[3] 郭素华. 高效液相法测定双黄连含片中连翘苷的含量 [J]. 中国药杂志, 2003, 38(4): 295-297.

(收稿日期 2004-04-17)

山东梁山严厉打击邮寄假药违法行为

[本刊讯] 今年以来, 山东梁山县药监局积极开展打击邮寄假药专项治理活动, 他们在当地党委和政府的支持下, 与公安、邮政等部门密切协作, 已连续破获了 4 起大案, 打掉 3 个制假窝点, 特别是侦破查处了涉及非法生产企业 4 个、非法配制单位 89 处、假药邮寄地点 1 232 个、假药品种 93 个、货值达 78 万余元的赵固堆邮政局邮寄假药案。在打击邮寄假药专项治理活动中, 药监、公安、卫生、工商行政、技术监督、邮政等部门, 通过定期召开联席会议、制定工作制度、案情分析等

形式, 建立了快速联动协作机制, 并与河南台前县建立了信息互通、大案联办、密切配合制度, 健全了药品监督双边联防联治机制, 从而形成了两省齐抓共管的局面。与此同时, 药监部门还和邮政部门联手, 从加强教育、提高法律意识入手, 共同下发了《关于严禁假劣药品通过邮政寄递的通知》, 对全县邮政职工提出了 4 条规定和要求, 与药监系统共同筑起了打击邮寄假药的铜墙铁壁。

(本刊记者 田洪顺)