

高效液相色谱法测定中耳炎颗粒中连翘苷的含量

刘永, 田军, 李刘辉

(安徽省药物研究所/安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230011)

[摘要] 目的: 建立中耳炎颗粒中连翘苷含量的测定方法。方法: 采用高效液相色谱法测定中耳炎颗粒连翘苷的含量。结果: 连翘苷含量在 0.047 5~1.52 μg 范围内, 线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.18%, RSD 为 0.90% ($n=5$)。结论: 所用方法专属性强、重复性好, 可用于中耳炎颗粒的质量控制。

[关键词] 中耳炎颗粒; 连翘苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)12-0016-02

中耳炎颗粒是临床经验方研制成的中药复方制剂, 具有清热利水、消肿通窍功能。用于急性分泌性中耳炎(风热袭耳证)。该制剂由连翘、桑白皮、金银花、辛夷、浙贝母等药组成, 化学成分十分复杂。为有效控制药品内在质量, 本实验建立了高效液相色谱法对连翘苷进行含量测定, 结果表明该方法简便、准确, 重现性好。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10ATvp 液相色谱仪, SPD-10A vp 紫外检测器, 浙江大学 2000 色谱数据工作站。电子天平(上海天平仪器厂); KQ-300DE 型超声提取仪(昆山

市超声仪器有限公司); 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

连翘苷(含量测定用, 批号: 110821-200406), 购自中国药品生物制品检定所, 甲醇为色谱纯(Fisher Chemicals), 水为重蒸馏水, 其余所用试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 含量测定 色谱条件^[12] 色谱柱: CenturySIL C₁₈ BDS 柱(200 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。流动相为乙腈-水(23: 77), 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹ 检测波长为 277 nm, 理论板数按连翘苷峰计 $n > 3000$ (见图 1)。

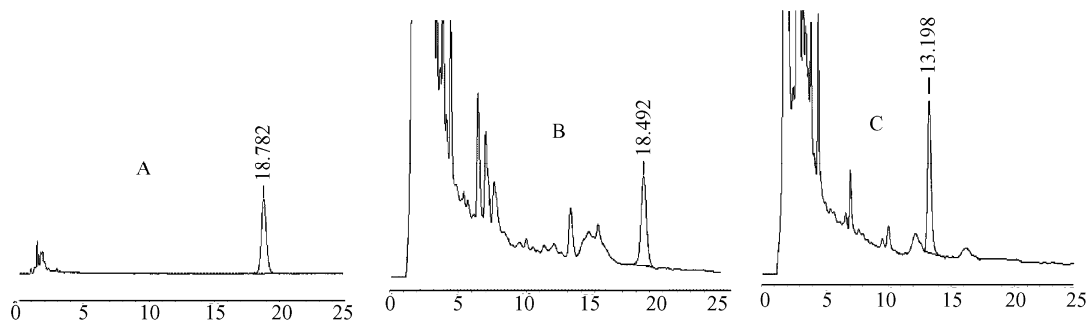


图 1 中耳炎颗粒中连翘苷的 HPLC 图谱

A. 连翘苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

2.2 对照品溶液的制备 取连翘苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定重量,超声处理(功率 120 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,蒸至近干,加中性氧化铝 0.5 g,拌匀,加置中性氧化铝柱(100~120 目,3 g,内径 1~1.5 cm)上,用 70% 乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,浓缩近干,残渣用甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 缺连翘苷阴性样品溶液的制备 取按制备工艺制成的不含连翘药材的阴性对照样品,分别吸取阴性对照溶液与供试品 10 μL 进行检测,结果表明,阴性对照品的图谱中,在与供试品的图谱中连翘苷峰位置上无峰出现,表明阴性无干扰。

2.5 线性关系的考察 精密吸取浓度为 0.19 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 连翘苷对照品溶液 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 mL 置 10 mL 的容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取上述溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图与峰面积,以对照品峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。得连翘苷回归方程为 $A = 824\ 175 \cdot C + 2\ 905.3$, $r = 0.999\ 9$,结果表明:连翘苷在 0.047 5~1.52 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取样品供试液 10 μL ,按上述色谱条件注入液相色谱仪,连续进样 6 次,求得连翘苷峰面积相对标准偏差 RSD 为 0.83%。结果表明本方法精密度好,准确。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试液 10 μL ,分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样,测得连翘苷峰面积相对标准偏差 RSD 为 0.75%,试验结果表明,供试品溶液在 12h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 精密称取同一批号样品(批号:050111)共 5 份,按含量测定项下制备供试液,精密量取该溶液 10 μL ,按上述色谱条件注入液相色谱仪,记录色谱图,计算连翘苷含量,连翘苷含量相对标准偏差 RSD 为 0.81% ($n = 5$),表明方法重复性好。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批号的样品(批号:050111,含量:含连翘苷为 0.236 4 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)约 1 g 共 5 份,置 25 mL 量瓶中,再分别精密加入浓度为 0.31 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的连翘苷对照品溶液 1.0 mL,以下按供试品溶液的制备方法配制供试液。分别取该溶液和对照品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图,并按外标法以峰面积计算,结果见表 1,结果连翘苷平均回收率为 99.18%,RSD 为 0.90% ($n = 5$)。试验结果表明:本方法回收率好,准确度高。

表 1 连翘苷回收率试验结果

序号	样品中量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.286 1		0.591 3	98.45		
2	0.315 8		0.624 1	99.45		
3	0.297 2	0.31	0.609 1	100.61	99.18	0.90
4	0.292 1		0.598 5	98.84		
5	0.293 4		0.598 9	98.55		

2.10 样品测定 连续 3 批样品按上述方法制备样品溶液,分别精密量取样品溶液和对照品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,按外标法以峰面积计算含量,样品含量分别为($\text{mg}/\text{袋}$) 2.39, 1.70, 1.95。

3 讨论

参考有关文献[3],连翘苷含量测定中流动相多用乙腈-水的不同配比溶液,参照《中国药典》中连翘药材项下连翘苷含量测定方法,对流动相进行了不同比例的比较,故确定流动相为:乙腈-水(23:77)。

本颗粒为中药 6 类复方制剂,所含成分复杂、相互干扰大,试验采用 HPLC 法测定制剂中连翘苷的含量,结果稳定,色谱分离效果良好,精密度高,准确可靠,可用于该制剂的质量控制的方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005: 117.
- [2] 聂东东,杨立娟,宋维秋,等. HPLC 测定双黄连制剂中连翘苷的含量[J]. 中国药房,2000,11(6): 275.
- [3] 郭素华. 高效液相法测定双黄连含片中连翘苷的含量[J]. 中国药学杂志,2003,38(4): 295-297.