

# 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0.0475~1.52 μg范围内,线性关系良好( $r=0.9999$ ),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 仪器与试药

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<sup>[1-2]</sup> 色谱柱:CenturySIL C<sub>18</sub> BDS柱(200 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:30℃。流动相为乙腈-水(23:77),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>检测波长为277 nm,理论板数按连翘苷峰计 $n>3000$ (见图1)。

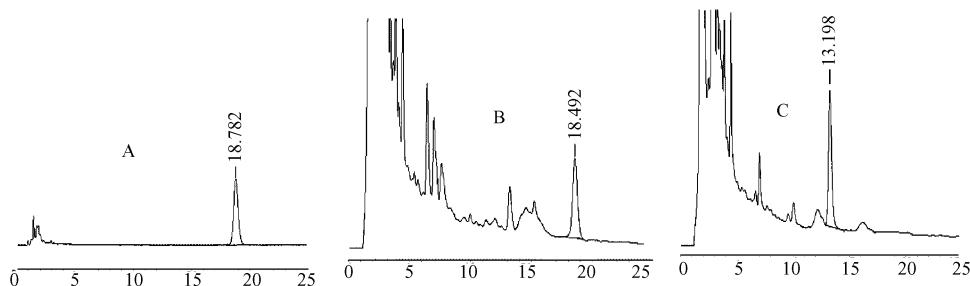


图1 中耳炎颗粒中连翘苷的HPLC图谱  
A. 连翘苷对照品;B. 供试品;C. 阴性对照品

[收稿日期] 2009-05-12

[通讯作者] \*田军, Tel:(0551)3669821; E-mail:tianjun222@hotmail.com

碱。查阅相关文献得知,苦参药材入药后苦参碱与氧化苦参碱存在相互转化关系,含苦参药材的复方水煮后,苦参碱的含量远高于氧化苦参碱,并随着时间的延长比例显著的增大<sup>[2]</sup>。

## 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, 2005:183.
- [2] 贾敏鸽, 孙文基. 苦参及其复方中苦参碱与氧化苦参碱的转化研究[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(2):90-94.

**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  $\mu\text{g}$  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  $\mu\text{m}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ ,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  $A = 824.175 * C + 2.905.3$ ,  $r = 0.9999$ ,结果表明:连翘苷在 0.0475~1.52  $\mu\text{g}$  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  $\mu\text{L}$ ,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** 精密吸取同一供试溶液 10  $\mu\text{L}$ ,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  $\mu\text{L}$ ,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 0.2364  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )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  $\mu\text{L}$ ,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	0.2861		0.5913	98.45		
2	0.3158		0.6241	99.45		
3	0.2972	0.31	0.6091	100.61	99.18	0.90
4	0.2921		0.5985	98.84		
5	0.2934		0.5989	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  $\mu\text{L}$ ,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( mg/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.