HPLC 法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量

史大军，邱海蕴，康红英（湖北省宜昌市食品药品监督检验所，宜昌 443003）

摘要： 目的 建立高效液相色谱法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量。方法 采用 Diamonsil C18 色谱柱，以甲醇-水（25∶75）为流动相，流速为 1.0mL·min^{-1}，检测波长为 277nm。结果 线性范围为 0.0496～0.2976μg，平均回收率为 99.2%，RSD 为 0.7%（n=9）。结论 本法简便、准确、重复性好，可用于该制剂质量控制。

关键词： 高效液相色谱法；连翘苷；清喉咽颗粒

中图分类号： R284；R927.2 **文献标识码：** A **文章编号：** 1002-7777（2012）01-0057-03

Determination of Phillyrin in Qinghouyan Granules by HPLC

Shi Dajun，Qiu Haiyun and Kang Hongying（Yichang Institute for Food and Drug Control，Hubei Pvovince 443003）

ABSTRACT: **Objective** To develop an HPLC method for determining the content of phillyrin in Qinghouyan Granules. **Methods** A diamonsil C18 column was adopted. The mobile phase was methanol-water(25∶75) with flow rate of 1.0mL·min^{-1}. The detection wave length was set at 277nm. **Results** Good linearity was obtained from 0.0496 to 0.2976μg for phillyrin; the mean recovery(n=9) was 99.2%. and RSD was 0.7%. **Conclusion** The method is simple and accurate with good reproducibility. It can be applied to the quality control of Qinghouyan Granules.

KEY WORDS: HPLC; phillyrin; Qinghouyan Granules

清喉咽颗粒是由地黄、连翘等五味中药组成的中药复方制剂。用于局限性咽白喉、轻度中毒性白喉、急性扁桃体炎、咽峡炎。起养阴、清咽、解毒的作用。在国家标准[1]中，未有定量分析。为了全面控制药品质量，本文增订了主要成分连翘中连翘苷的含量测定方法，参考有关资料[2-10]，采用 HPLC 法对连翘苷进行测定，方法简便、快速、准确。

1 仪器和试药

Agilent 1100 series 高效液相色谱仪 METTLER-AE240 电子分析天平。

连翘苷对照品（中国药品生物制品检定所，供含量测定用，批号：110821-200711）；甲醇为色谱纯，水为去离子双蒸馏水，其他试剂均为分析纯。

清喉咽颗粒 3 批（四川某药业有限公司，批号：0903001；福建某药业有限公司，批号：20090201；广西某药业有限公司，批号：090704）

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Diamonsil C18（4.6mm×250mm，5μm）；流动相：甲醇-水（25∶75）；流速：1.0mL·min^{-1}；检测波长为 277nm；柱温：25℃。本试验条件下连翘苷峰与其他组分分离完全（分离度大于 1.5），理论塔板数以连翘苷峰计算为 8259。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷干燥 12h 的连翘苷对照品 12.40mg，置 50mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度（储备液 0.2480mg·mL^{-1}），再精取 5mL，置 50mL 量瓶中，用 50%甲醇稀释至刻度，摇匀即得。

2.2.2 供试品溶液的制备

取本品 5 袋，精密称定，研细，取约 5g，精

作者简介：史大军，本科，副主任药师；研究方向：药品检验及药品质量标准研究；Tel：13986833843；E-mail：ddjj669@163.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

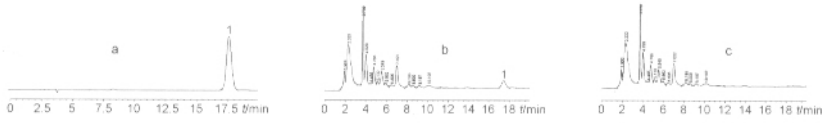
密称定，用甲醇加热回流 2 次，每次 25mL，每次 30min，滤过，残渣及滤器用甲醇 15mL 分次洗涤，洗液与滤液合并，蒸干，残渣加稀乙醇 10mL 使溶解，加在中性氧化铝柱（100～200 目，3g，内径 1cm）上，用稀乙醇 70mL 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣用 50%甲醇溶解，转移置 25mL 量瓶中，加 50%甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备

取除连翘外按处方量配置的样品，按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.2.4 阴性对照试验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液注入色谱仪，记录色谱图，见图 1。连翘苷保留时间约为 17.6min。阴性对照色谱图在连翘苷峰位置无干扰峰，对测定无干扰。



a. 对照品；b. 供试品；c. 阴性对照；1. 连翘苷。

图 1 清喉咽颗粒 HPLC 色谱图

2.3 线性关系考察

精密量取按“2.2.1”项下方法制备的对照品溶液 2、4、6、8、10、12μL 注入色谱仪。以色谱峰面积为纵坐标，以进样量为横坐标进行线性回归，回归方程：

$Y=1.559\times10^{2}X-1.333$ $r=0.9999$

结果表明，线性范围为 0.0496～0.2976μg。

2.4 精密度试验

取按“2.2.1”项下方法制备的对照品溶液，重复进样 6 次，每次进样 10μL 测得峰面积平均值为 1679，RSD 为 0.3%

2.5 重复性试验

取同一批号的样品（批号：0903001）5 份，按“2.2.2”项下方法制备，依法测定。结果，连翘苷含量 2.659mg·袋$^{-1}$，RSD 为 0.8%；表明本法重复性好。

2.6 稳定性试验

取同一批号的样品（批号：09030001），在 0、1、4、12、24、48、72h 分别进样，依法测定。结果 7 次测定连翘苷峰面积 RSD 为 1.0%，表明样品溶液在 3d 内稳定。

2.7 回收率试验

精密称取同一批已知含量的样品（批号：0903001，含量：2.659mg·袋$^{-1}$）9 份，分为 3 组，每组分别精密加入“2.2.1”项下连翘苷对照品储备液（0.2480mg·mL^{-1}）1、1.2、1.5mL，混匀，按“2.2.2”项下方法制备所需溶液，按上述色谱条件进样 10μL，测得峰面积，计算平均回收率和 RSD。结果见表 1。

2.8 样品测定

精密吸取“2.2”项下对照品溶液和供试品溶液各 10μL，分别注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定，按外标法计算即得。结果见表 2。

表 1 加样回收试验结果（$n=9$）

样品含量（mg）	加入量（mg）	测得量（mg）	回收率（%）	平均回收率（%）	RSD（%）
0.3082	0.2480	0.5520	98.3		
0.3044	0.2480	0.5487	98.5		
0.3046	0.2480	0.5494	98.7		
0.3058	0.2976	0.6004	99.0		
0.3079	0.2976	0.6034	99.3	99.2	0.7
0.3008	0.2976	0.5975	99.7		
0.3088	0.3720	0.6801	99.8		
0.3026	0.3720	0.6731	99.6		
0.3048	0.3720	0.6775	100.2		

表 2 样品含量测定（$n=3$）

批号	含量（mg·袋$^{-1}$）	RSD(%)
0903001	2.659	0.3
200902012	1.977	0.2
090704	0.588	0.2

3 讨论

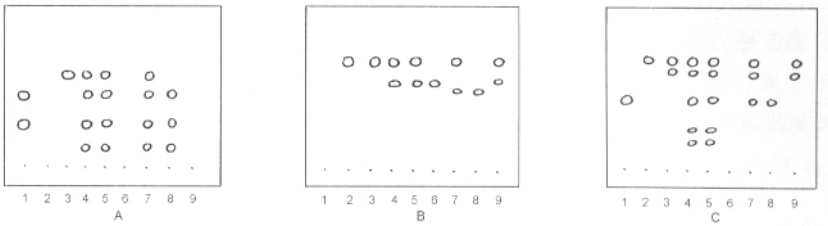
本品采用中性氧化铝柱洗脱的前处理方法，可以除去大部分的杂质，同时不会造成指标成分连翘苷的损失，把对设备的损害尽可能降到最低程度。

取连翘对照品进行紫外扫描（200～400nm），结果在 277.0nm 波长处有最大吸收，试验选择 277nm 作为检测波长。

对不同厂家的 3 批清喉咽颗粒进行试验，发现样品中连翘苷的含量相差很大，原因可能与原药材连翘的产地、采集时间、加工炮制及前处理过程有关。为保证药品质量，确保疗效，有必要控制清喉咽颗粒中的连翘苷含量。（下转第 71 页）

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

显相同颜色的荧光斑点；在与僵蚕对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；再置紫外光灯（UV254nm）下检视，在与羌活对照药材色谱相应的位置上，显 2 个相同颜色的荧光熄灭斑点；然后喷以 1%的三氯化铝乙醇溶液，吹干后，置紫外光灯（UV365nm）下检视，供试品色谱中，在与当归对照药材色谱相应的位置上，显 2 个相同颜色的荧光斑点。阴性样品无干扰，见图 3。



a. 胶囊中羌活（254nm 检视）；b. 胶囊中川芎、当归和僵蚕 TLC 图（365nm 检视）；c. 胶囊中川芎、当归 TLC 图（增荧光后 365nm 检视）；1. 羌活；2. 川芎；3. 当归；4、5. 样品；6. 僵蚕；7. 僵蚕空白；8. 当归和川芎空白；9. 羌活空白。

图 3 祛风止痛胶囊 TLC 图

3 讨论

目前的鉴别模式多是一个供试品溶液，一块薄层板，展开一次，鉴别一种药材[2-4]。且样品前处理方法繁琐、费时、污染环境，危害健康[2,5]。采用同一样品溶液，在 3 块薄层板上分别鉴别木香、白术、姜黄和甘草；甘草、延胡索和三七；以及羌活、当归、僵蚕和川芎，为首次报道。有效提高了检测效率，节约了成本。

在含当归与川芎药材原粉或经乙醇提取的复方制剂中，多是鉴别二者共有的荧光斑点[5-6]，即藁本内酯[7-8]，无法对当归与川芎进行区分。本研究首次发现了区别二者的特征点，即喷 1%的三氯化铝乙醇溶液后，在当归亮兰色荧光斑点下方，又呈现出一个亮兰色荧光斑点，而川芎无此斑点呈现，使二者得以区分。

本研究还对薄层板的耐用性试验进行了研究，即取材料项下不同来源的薄层板，采用文章中的展开剂，进行展开，斑点检视，结果表明：薄层板对斑点的展开效果无影响。但市场购置的预制薄层板，受黏和剂含量的影响，含量越低，越与自制薄层板的效果一致。为适合不同的薄层板，对样品的点样量规定了幅度范围，黏和剂含量高时，降低点样量，可提高展开效果。

温度和湿度对薄层展开无影响。原因是：1）符合检测条件的实验室都是能调整温度和湿度的标准实验室。2）本文中所检测的成分，都是经提纯的脂溶性或偏脂溶性成分，展开剂中无低沸点和易挥发的组分，所以常温下的湿度变化，对鉴别无影响。

参考文献：

[1] 韩桂茹，赵韶华，赵志军，等．中药全息薄层鉴别研究［J］．中成药，2009，31（1）：5-9.
[2] 中国药典［S］．一部，2010：831-832；488-489.
[3] 李炜，王海亮，张静赟．复方骆驼蓬子软膏质量标准研究［J］．中成药，2011，33（1）：69-73.
[4] 欧 燕，李希，张嵩，等．消炎洗散质量标准研究［J］．中成药，2011，33（4）：629-633.
[5] 国家药品监督管理局编．国家中成药标准汇编，内科 气血津液分册［S］．Ws-10061（ZD-0061）2002：323；Ws-11270（ZD-1270）2002：362
[6] 刘海英，郭丽红，王秀琴，等．白癜风胶囊 1 号的薄层色谱鉴别研究［J］．时珍国医国药，2004，15（7）：414-415.
[7] 张村，李丽，耿立冬，等．川芎药材有效成分鉴别及其含量标准研究［J］．北京中医药大学学报，2005，28(2)：66-69.
[8] 胡杰，冯丽莉，刘延，等．当归川芎中藁本内酯含量测定及醇提工艺研究［J］．沈阳药科大学学报，2005，22（2）：81-84.

（上接第 58 页）

参考文献：

[1] 卫生部药品标准中药成方制剂［S］．第二册，1990：255-255.
[2] 中国药典［S］．一部，2005.
[3] 卫生部药品标准新药转正标准［S］．第十六至二十六册，2002：534-534.
[4] 赵子剑，赵启鹏．复方石淋通片的质量标准研究［J］．现代中医药，2002，25（5）：69-70.
[5] 陆红柳，谭喜莹，赵陆华，等．连翘中连翘苷 HPLC 测定方法的改进［J］．中草药，2007，38（6）：936-937.
[6] 韩桂茹，庞国勋．连翘苷检测波长的研究［J］．中国药品，2005，6（3）：71-73.
[7] 刘吉成，刘建华，杨德柱．夏连颗粒中连翘苷含量的 HPLC 法测定［J］．中国中医药信息杂志，2004，11（6）：507-507.
[8] 黄螺嘉，杨文红，郑剑红．HPLC 法测定小儿感冒退热糖浆中连翘苷的含量［J］．中草药，2004，35（7）：768-768.
[9] 莫志江，莫可元．HPLC 法测定抗病毒口服液中连翘苷含量［J］．西北药学杂志，2000，4（15）：145-147.
[10] 吉红梅，孙文基．HPLC 法测定桑姜感冒注射液中连翘苷含量［J］．中成药，2004，26（9）：附 10-附 10.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net