

连翘提取物和连翘酯苷 A 原料中连翘酯苷 A 的稳定性研究

王曙宾¹, 郑亚杰²

(1. 以岭医药集团北京以岭医药研究院, 北京 102600; 2. 石家庄以岭医药研究院, 河北 石家庄 050035)

摘要:目的 考察连翘提取物及其主要有效成分连翘酯苷 A 的稳定性, 为更好控制连翘提取物质量提供依据。方法 采用高温、高湿、强光照射等影响因素试验及加速试验对样品在固体状态下以及水溶液中的稳定性进行系统研究。结果 固态条件下湿度对连翘酯苷 A 稳定性影响较大, 光照次之, 温度影响不大; 在水溶液中, 酸性条件及抗氧化剂的加入能改善其稳定性, 维生素 C(Vc) 能显著提高其在溶液中的稳定性。结论 固态条件下, 要保持连翘提取物及连翘酯苷 A 稳定, 须对湿度、光照加以控制; 水溶液中, 酸性介质及抗氧化剂的加入有利于改善水溶液中连翘酯苷 A 的稳定性。

关键词:连翘; 连翘酯苷 A; 稳定性; 高效液相色谱

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)06-0909-03

连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia Suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实, 味苦, 性微寒, 具有清热解毒、消肿散结的功效^[1]。连翘中所含化学成分主要有苯乙醇苷类、三萜类、木脂素类、黄酮类、挥发油类等, 其中苯乙醇苷类已发现的有连翘酯苷 A、B、C、D、E 等^[2], 以连翘酯苷 A 的量最高且药理活性较强。前期研究表明, 青翘中连翘酯苷 A 最高, 可达 2.73%。连翘酯苷 A 具有解热、抗感染作用^[3], 同时, 具有较强的抗氧化活性^[4], 对合胞病毒等呼吸道病毒具有较强的抑制作用^[5], 而通常作为连翘药材及其制剂考察指标的连翘苷无此活性。因此有建议采用连翘酯苷 A 作为连翘药材及其制剂的质量评价的指标^[6]。连翘酯苷 A 为苯乙醇咖啡酸类化合物, 在酸、碱条件下易水解产生咖啡酸、D-葡萄糖、L-鼠李糖和一次级苷^[7]。已经有关于连翘酯苷 A 在不同温度和 pH 值条件下稳定性研究的报道^[7]。本实验对连翘提取物及连翘酯苷 A 的稳定性进行了较为全面的考察, 为更好控制连翘相关制剂质量及储存条件提供依据。

1 仪器与试剂

Waters 2695—2996 高效液相色谱仪; DAD 检测器; Empower 工作站; HENGAO T&D HS10260D 超声波清洗仪; Mettler Toledo AG135 型电子天平; YB—2 型澄明度检测仪(天津大学精密仪器厂)。

连翘酯苷 A 对照品购自辽宁生物医药科技有限公司, 面积归一化法检测质量分数达 98%; 连翘

提取物(自制); 羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD, 药用级); 甲醇(色谱纯); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-0.1%磷酸(B), 梯度洗脱, 0~10 min, 20%~25% A, 10~20 min, 25%~35% A, 20~60 min, 35%~40% A, 60~70 min, 40%~20% A; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 328 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。连翘酯苷 A 峰与相邻峰达到基线分离, 理论塔板大于 3 000。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性范围: 精密称取连翘酯苷 A 对照品 25.34 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀。再从中精密吸取 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加水溶解并定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 分别进样 5、10、15、20、25、30 μL, 记录峰面积, 并以峰面积对进样量进行线性回归, 得回归方程 $Y = 2.7058X + 7.5097$ ($r = 0.9999$), 结果表明连翘酯苷 A 在 19.26~245.38 ng 线性关系良好。

2.2.2 精密度试验: 取连翘酯苷 A 对照品溶液, 进样 10 μL, 连续测定 5 次, 峰面积的 RSD 为 0.11%。

2.2.3 稳定性试验: 取连翘酯苷 A 对照品溶液适量 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 分别在 0、2、4、6、8 h 进样测定, 峰面积的 RSD 为 1.06%; 另取连翘提取物溶液适量, 分别在 0、2、4、6、8 h 进样测定, 连翘酯苷 A 峰面积的 RSD 为 0.77%, 表明连翘提取物溶液

收稿日期: 2009-09-03

作者简介: 王曙宾(1976—), 男, 甘肃会宁人, 高级工程师, 中药学博士, 以岭医药集团北京以岭医药研究院中药室主任, 从事中药、天然药物新剂型、新技术研究。Tel: (010) 859705134 E-mail: shubinwang@126.com

在 8 h 内稳定性良好。

2.2.4 重现性试验:取同一批连翘提取物样品(批号 051101)适量,共 6 份,置 25 mL 量瓶中,加水溶解并定容至刻度,摇匀。分别用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,测定,计算连翘提取物中连翘酯苷 A 的量,结果表明,各次试验差异不大,连翘酯苷 A 质量分数的 RSD 为 1.35%。

2.2.5 回收率试验:取批号 051101 的连翘提取物 9 份,每份约 50 mg,共 9 份,精密称定,精密加入 0.963 mg/mL 连翘酯苷 A 对照品溶液 1、2、3 mL,按供试品溶液制备方法处理,进行测定,计算回收率,结果平均加样回收率为 101.14%,RSD 为 2.75%。

2.3 供试品溶液的制备:分别取各试验样品适量(按干燥品计,取样量相当),加水溶解并定容,取适量用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液测定。分别取不同条件样品溶液适量,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 高温试验:精密称取连翘提取物及连翘酯苷 A 适量各两份,置扁形称量瓶中,在 40 和 60 条件下放置 10 d。分别在第 5、10 天取样测定连翘酯苷 A 质量分数,并将测定结果与样品中初始质量分数比较,计算连翘酯苷 A 的损失率[损失率 = (样品初始连翘酯苷 A 质量 - 各样品中连翘酯苷 A 测得量) / 该样品初始连翘酯苷 A 质量 × 100%],结果见表 1。可知固态连翘提取物和连翘酯苷 A 纯品在高温条件下均比较稳定,因此可认为温度并不是影响连翘酯苷 A 稳定性的主要因素。

表 1 连翘提取物和连翘酯苷 A 高温试验结果

Table 1 High temperature test of *F. suspensa* extract and forsythoside A

样品名称	取样时间/d	连翘酯苷 A 损失率/%	
		40	60
连翘提取物	5	0.12	0.15
	10	0.21	0.31
连翘酯苷 A	5	0.18	0.20
	10	0.34	0.41

2.5 高湿试验:精密称取连翘提取物及连翘酯苷 A 适量各两份,置扁形称量瓶中,于 25 °C、相对湿度 (RH) 75% ± 1% (NaCl 饱和溶液) 和 RH 92.5% ± 5% (KNO₃ 饱和溶液) 条件下放置 10 d。分别在第 5、10 天取样检测,计算连翘酯苷 A 的损失率,结果见表 2。可知在 RH75% ± 1% 条件下,连翘酯苷 A 在考察期内损失不大;但在 RH92.5% ± 5% 条件下,均大幅损失,表明连翘酯苷 A 对湿度比较敏感,

提示连翘酯苷 A 在水溶液中可能会极不稳定。连翘提取物中连翘酯苷 A 在高湿环境中 10 d 后损失约 30%,此结果提示对连翘提取物制剂的储存要注意控制相对湿度。

表 2 连翘提取物和连翘酯苷 A 高湿试验结果

Table 2 Result of high humidity test of *F. suspensa* extract and forsythoside A

样品名称	取样时间/d	连翘酯苷 A 损失率/%	
		RH75% ± 1%	RH92.5% ± 5%
连翘提取物	5	0.5	1.2
	10	30.0	33.1
连翘酯苷 A	5	0.1	10.8
	10	2.7	21.0

2.6 强光试验:精密称取连翘提取物及连翘酯苷 A 适量各 2 份,置扁形称量瓶中,室温下置照度为 4 500 ± 500 lx 条件下放置 10 d。分别在第 5、10 天取样检测,计算连翘酯苷 A 的损失率,结果见表 3。可知在强光条件下,考察期内连翘酯苷 A 损失超过 5%,提示连翘酯苷 A 对光较为敏感,保存时应尽量避光。

表 3 连翘提取物和连翘酯苷 A 强光照试验结果

Table 3 Strong illumination test of *F. suspensa* extract and forsythoside A

样品名称	取样时间/d	连翘酯苷 A 损失率/%
连翘提取物	5	4.5
	10	7.8
连翘酯苷 A	5	3.5
	10	5.7

2.7 不同条件水溶液加速试验:精密称取连翘提取物和连翘酯苷 A 适量,分别用适量的水、0.1% H₃PO₄ 水溶液、0.2% H₃PO₄ 水溶液、0.5% NaHSO₃ 水溶液、0.2% Vc 水溶液溶解并定容,另取样品采用羟丙基-β-环糊精包合后,于 (40 ± 2) °C, RH 75% ± 5% 条件放置 10 d,分别在第 5、10 天取样检测,计算连翘酯苷 A 的损失率,结果见表 4。可知在水溶液中连翘酯苷 A 极不稳定,考察期内几乎损失 80%;当溶液呈酸性,即在一定浓度的 H₃PO₄ 水溶液中,或加入抗氧化剂,则稳定性大大提高;采用羟丙基-β-环糊精包合对增加连翘酯苷 A 稳定性几乎没有效果。

对比较稳定的连翘酯苷 A 0.2% H₃PO₄ 水溶液,0.5% NaHSO₃ 水溶液,以及 0.2% Vc 水溶液进行跟踪分析,6 个月后进行测定,结果见表 5。可知 6 个月后只有含 0.2% Vc 的连翘酯苷 A 溶液中的连翘酯苷 A 能够比较稳定的存在,但损失依然高达 22.3%。

表 4 不同溶液中连翘酯苷 A 稳定性考察结果

Table 4 Stability of forsythoside A in different solutions

样品名称	溶液	连翘酯苷 A 损失率/ %	
		5 d	10 d
连翘提取物	H ₂ O	56.0	68.3
	0.1% H ₃ PO ₄	0.0	2.7
	0.2% H ₃ PO ₄	0.0	1.0
	0.5% NaHSO ₃	14.9	22.0
	羟丙基-环糊精	55.9	68.2
	0.2% Vc	0.0	1.5
连翘酯苷 A	H ₂ O	68.4	74.8
	0.1% H ₃ PO ₄	0.0	1.3
	0.2% H ₃ PO ₄	0.0	6.6
	0.5% NaHSO ₃	7.2	17.2
	羟丙基-环糊精	60.6	80.7
	0.2% Vc	0.0	2.3

表 5 半年后不同溶液中连翘酯苷 A 稳定性考察结果

Table 5 Stability of forsythoside A in different solutions after half year

溶液	连翘酯苷 A 损失率/ %
0.2% H ₃ PO ₄	100.0
0.5% NaHSO ₃	100.0
0.2% Vc	22.3

3 讨论

对连翘提取物及连翘酯苷 A 的稳定性进行的考察结果表明连翘酯苷 A 对湿度比较敏感,高湿条件下尤其不稳定;对光照亦比较敏感,在固态条件下,温度对其稳定性影响并不是很明显。同时,对连翘酯苷 A 在水溶液中的稳定性进行了研究,结果表

明,酸性条件及抗氧化剂的加入均有利于连翘酯苷 A 的稳定。

6 个月加速稳定性试验初步显示,即使在酸性条件下保存,水溶液中连翘酯苷 A 依然极不稳定,在 0.2% Vc 溶液中较其它溶液体系稍显稳定,可能与 Vc 较强的抗氧化能力有关,因此,生产中连翘提取物及连翘酯苷 A 要制备成液体制剂,如何确保其在水溶液中的稳定性成为重点考虑解决的问题。

由于连翘酯苷 A 不稳定,在连翘药材及其制剂加工制备过程中,要根据处方药液性质,对药液酸碱度及提取浓缩温度进行控制;含连翘提取物及连翘酯苷 A 的固体制剂须对湿度或含水量加以控制,液体制剂须对体系 pH 值及抗氧化剂等进行全面筛选。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 李倩,冯卫生. 连翘的化学成分研究进展[J]. 河南中医学院学报. 2005,20(117):78.
- [3] 冯淑怡,李先荣,孙建宁. 连翘酯苷抗感染、解热最用研究[J]. 现代生物医学进展. 2006,6(10):73.
- [4] 张立伟,赵春贵,杨频. 连翘酯苷抗氧化活性及构效关系研究[J]. 中国药学杂志. 2003,38(5):334~336.
- [5] 胡克杰,徐凯建,王跃红,等. 连翘酯苷体外抗病毒作用的实验研究[J]. 中国中医药科技. 2001,8(2):89.
- [6] 张炜,张汉明,郭美丽,等. HPLC 法测定感冒退热颗粒(冲剂)中连翘酯苷 A 的含量. [J]. 中草藥. 1999,30(2):268-270.
- [7] 张立伟,杨频. 连翘酯苷稳定性研究. [J]. 中成药. 2003,25(5):353-356.

HPLC 法测定紫英抗炎合剂中咖啡酸

顾琳娜,陈敏,朱佳茜

(浙江省湖州市食品药品监督管理局,浙江湖州 313000)

摘要:目的 采用高效液相色谱法,研究并建立测定紫英抗炎合剂中咖啡酸的方法。方法 高效液相色谱法。Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-磷酸盐缓冲液(15:85);检测波长 323 nm;体积流量 1.0 mL/min;柱温 40 °C;进样量 10 μL。结果 咖啡酸在 6.40~64.04 μg 具有良好的线性关系,平均回收率为 99.85%。结论 本法准确、快速、简便、可行、重现性好、专一性强,可用于紫英抗炎合剂中咖啡酸的测定。

关键词:紫英抗炎合剂;咖啡酸;高效液相色谱

中图分类号:R284.2

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)06-0911-02

紫英抗炎合剂原名妇科抗炎 1 号浓煎剂,来源于湖州市中医院名老中医经验方,由败酱草、蒲公英、大血藤、紫花地丁、乳香(制)、延胡索(醋制)等组

成,具有清热解毒作用,用于女性生殖器急性、亚急性炎症等有很好的疗效^[1]。方中主药之一蒲公英具有清热解毒、消肿散结、利尿通淋的作用,咖啡酸为

收稿日期:2009-10-26

作者简介:顾琳娜(1955—),女,浙江省湖州市人,副主任中药师,研究方向为中药鉴定、中药检验。

Tel:(0572)2750808 E-mail:gln8168@sina.com