

1.5 min;载气: N_2 ;检测器:FID。理论板数按正丁醇峰计算应不低于3 000。

2.2 对照品溶液的制备:精密吸取正丁醇193.0 μ L (156.25 mg)置100 mL量瓶中,以二甲基亚砷溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取4.0 mL置25 mL量瓶中,以二甲基亚砷稀释至刻度,摇匀。取溶液2 mL置10 mL顶空瓶中,密封。

2.3 供试品溶液的制备:取本品约100 mg,精密称定,置10 mL顶空瓶中,加二甲基亚砷2 mL,密封,加热使溶解,即得。

2.4 标准曲线的制备:精密吸取正丁醇193.0 μ L (156.25 mg)置100 mL量瓶中,以二甲基亚砷溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取0.1、0.4、0.8、4.0、8.0、16.0 mL置25 mL量瓶中,以二甲基亚砷稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件及顶空进样条件分别测定,记录峰面积值。以对照品溶液的质量浓度(C)为横坐标,峰面积积分值(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A=465.6 C-0.58$, $r=0.9999$ 。结果表明:正丁醇在0.006 25~1.0 mg/mL时,进样质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 空白试验:取二甲基亚砷溶剂2 mL,按上述色谱条件测定,在正丁醇处无峰,不干扰测定。

2.6 最小检出质量浓度:在上述色谱条件下,正丁醇的最小检出质量浓度为0.006 25 mg/mL (为供试品溶液质量浓度的0.0125%)。

2.7 精密度试验:取0.25 mg/mL正丁醇对照品溶液按上述色谱条件及顶空进样条件平行测定6次,

结果峰面积的RSD为2.17%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液于0、2、4、6、8、24、40 h测定其峰面积值,结果峰面积的RSD为0.31%。表明试验溶液在40 h内稳定性良好。

2.9 回收率:取批号为020726样品100 mg,6份,分别置10 mL顶空瓶中,加入正丁醇对照品溶液2 mL,密封,加热使溶解。取上述两种溶液分别测定,以对照品溶液为对照,计算回收率。结果平均回收率为100.7%,RSD为1.79% ($n=6$)。

2.10 样品中正丁醇的残留量测定:取供试品溶液2 mL置10 mL顶空瓶中,密封,100 $^{\circ}$ C平衡15 min,取顶空气1 mL注入气相色谱仪,测定,结果见表1。结果表明样品中正丁醇残留量很少,均低于《ICH》规定的小于0.5%的要求。

表1 心宁提取物中正丁醇残留量的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of *n*-butanol residues in Xinning extract ($n=3$)

批号	正丁醇/%
020722	未检出(0.012 5%以下)
020724	0.061
020726	未检出(0.012 5%以下)

3 讨论

本实验采用正丁醇萃取的方法制备的心宁提取物,总黄酮质量分数大于50%,通过顶空进样气相色谱法测定正丁醇的残留量,3批样品结果均小于0.5%,符合《ICH》的规定,证明工艺是可行的,同时也保证人用药的安全。

HPLC法对精制银翘解毒胶囊中连翘苷的定量分析

潘莹¹,江海燕²,卢忠朋²

(1. 广西区人民医院 药剂科,广西 南宁 530021; 2. 广西中医学院,广西 南宁 530001)

精制银翘解毒胶囊是由连翘、金银花、桔梗等药味组成。具有显著抗菌、抗病毒、抗炎、镇痛、散风、退热作用,对于流行性感、头痛咳嗽、咽喉疼痛、温毒发疹、两腮赤肿具有很好疗效。连翘苷是方中主药连翘的主要成分之一,具有较强抗菌作用和抗病毒作用,并能抑制CAMP磷酸二酯的活性。连翘药材中的连翘苷含量测定方法有薄层扫描法、HPLC法

等^[1~3]。本实验采用HPLC法测定精制银翘解毒胶囊中连翘苷的含量,该方法灵敏、准确,可作为精制银翘解毒胶囊的质量标准。

1 仪器与试剂

日本岛津LC-10A液相色谱仪,SPD-8A紫外检测仪,岛津C-R10A数据处理机。连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:709-2008,

收稿日期:2003-12-04

作者简介:潘莹(1967—),女,主管药师,1990年毕业于广西中医学院药学专业,主要从事医院制剂与药理研究。

纯度 98%),精制银翘解毒胶囊(贵州金康制药有限公司,批号:20020325、200204165、20020523),所用试剂均为色谱纯,纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Shim-Pack C₁₈柱(150 mm×4.8 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(25:75),测定波长为 277 nm,体积流量为 1.0 mL/min,柱温为室温,进样量为 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取连翘苷对照品 10.23 mg,置 100 mL 量瓶中,加 50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取精制银翘解毒胶囊内容物约 1.0 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 45 min,并加甲醇至刻度,滤过,精密吸取续滤液 25 mL,蒸干,加水 15 mL 加热使溶解,置分液漏斗中,用醋酸乙酯提取 5 次,合并醋酸乙酯,并蒸发至近干,加中性氧化铝 0.5 g 拌匀,用 75%乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用 50%甲醇后转移至 10 mL 量瓶中,用 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准曲线的制备:分别吸取连翘苷对照品溶液 2、5、10、15、20 μL 进样,记录峰面积。以连翘苷的进样量(μg)为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标,回归得标准曲线: $Y = 2.74 \times 10^6 X + 0.0012$, $r = 0.9998$ 。结果表明,连翘苷的进样量在 0.2046~2.046 μg 与其峰面积呈良好线性关系。

2.5 阴性对照试验:按精制银翘解毒胶囊的处方量下制备不含银翘药材的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液,吸取 20 μL 进样,按上述条件测定,结果表明,阴性样品中其他成分对连翘苷色谱无干扰。

2.6 精密度试验:取同一供试品溶液和对照品溶液 20 μL,分别重复进样 5 次,测定连翘苷峰面积,结果对照品和供试品的峰面积的 RSD 分别为 0.36% 和 1.12%($n=5$)。

2.7 稳定性试验:精密取供试品溶液(批号为 20020416),按上述色谱条件,间隔 2 h 进样 1 次,共考察 12 h,结果连翘苷峰面积在 12 h 内基本稳定不变,RSD 为 0.33%。

2.8 重现性试验:取本品(批号:20020416)5 份按供试品溶液制备方法制备,测定连翘

苷的含量,结果连翘苷的质量分数为 0.344 mg/g, RSD 为 1.32%。

2.9 回收率试验:采用加样回收法。取已知含量的样品,分别添加连翘苷对照品适量,按样品测定项下方法测定连翘苷的含量,计算回收率,结果平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.33%。

2.10 样品的测定:分别精取供试品溶液 20 μL,注入色谱仪,按上述色谱条件测定,计算连翘苷的含量,结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 精制银翘解毒胶囊中连翘苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Forsythiin in Refined Yinqiao Capsule ($n=3$)

批 号	连翘苷/(mg·粒 ⁻¹)	RSD/%
20020325	0.636	1.36
20020416	0.701	1.37
20020523	0.669	1.32

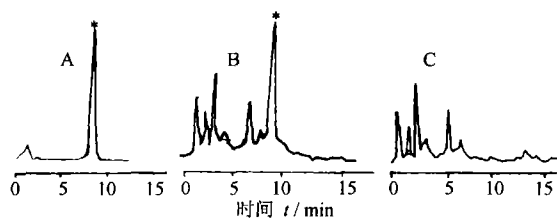


图 1 连翘苷对照品(A)、精制银翘解毒胶囊(B)和缺连翘的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of forsythiin reference substance (A), Refined Yinqiao Capsule (B), and negative sample without *Fruetus Forsythiae* (C)

3 讨论

实验根据文献报道^[2],对不同的流动相如甲醇-水、乙腈-甲醇-水以及不同比例的乙腈-水系统进行了比较,结果表明:乙腈-水(25:75)时连翘苷峰形对称,分离完全。阴性对照不干扰。

采用上述方法提取精制银翘解毒胶囊,提取完全,快捷稳定、杂质对分离无干扰,选择性强,可为精制银翘解毒胶囊的质量控制及含量测定提供可行的方法。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Li J, Chen Z, Ma K. Determination of content of phyllirin in Shuanghuanglian preparations by TLCS [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(8): 394-395.
- [3] Zhang W, Zhang H M, Gao M L. Determination of forsythiin in *Fruetus Forsythiae* and Ganmao Tuire Granule by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(3): 452-453.