

crosside contents between wild and planting *Gentiana* in Qinghai province [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志), 2005, 20(2): 137.

[10] Li X Y, Li F A, Li J M, et al. Research the influence factors on the gentiopicroside in planting *Gentiana* from Qinghai Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(8): 1237.

[11] Hao B H, Sun W J, Zhi Z H, et al. Supersonic extraction of gentiopicrocin in *Gentiana macrophylla* Pall and determination of its content by HPLC [J]. *J Northwest Univ; Nat Sci* (西北大学学报:自然科学版), 2004, 36(1): 81.

[12] Bai S, Ni J, Kong H, et al. Studies on extraction process of *Gentiana* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 9(27): 1074.

连翘中连翘苷 HPLC 测定方法的改进

陆红柳^{1,2}, 谭喜莹^{1,2}, 张 飞^{1,2}, 赵陆华^{1,2*}

(1. 药物质量与安全预警教育部重点实验室, 江苏 南京 210009; 2. 中国药科大学 分析测试中心, 江苏 南京 210009)

连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 是木犀科植物连翘属落叶灌木, 以果实入药, 连翘药材商品分为“青翘”、“老翘”^[1]。连翘是中药中最常见的药材之一, 具有清热解毒、散结消肿之功效。其主要成分为连翘苷、连翘酯苷、连翘酚等。对连翘及连翘相关制剂的质量评价中, 多以连翘苷作为一项主要指标。对于样品的预处理, 《中国药典》^[2]是采用过氧化铝柱方法, 文献^[3~6]中有采用石油醚脱脂后超声法, 冷浸过夜法, SPE 法等。但经研究表明这些方法比较繁琐, 特别是对于因产地差异或药材储存期限所致连翘苷量较低的样品测定, 回收率低, 重现性差。对于测定波长的选择, 《中国药典》及文献多采用 277 nm, 由于连翘苷在该波长处吸收小, 低量的样品测定误差较大。因此, 本实验对《中国药典》方法及文献方法进行改进, 采用直接超声方法提取连翘药材, 并选择低波长进行测定, 结果可靠, 方法简便, 回收率及灵敏度高, 重现性好。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10AD VP 高效液相色谱仪, 岛津 SPD-10A VP 检测器, 浙江大学 N2000 型色谱工作站。乙腈为 HPLC 级, 水为乐百氏纯净水。连翘苷对照品和连翘对照药材由中国药品生物制品检定所提供。连翘药材收集于河南、南京, 经中国药科大学宋学华教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: 大连依利特 Hypersil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (24 : 76); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 205 nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取连翘苷对照品 4.94 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成质量浓度为 494 μg/mL 储备液。精密吸取连翘苷储备液适量, 配制成为 19.8 μg/mL 连翘苷溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取连翘药材粉末 1 g, 加 80% 甲醇 100 mL 浸泡 30 min, 超声 30 min, 静置 10 min, 再超声 30 min, 滤过, 浓缩, 定容至 50 mL 量瓶中, 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 测定方法: 精密吸取供试品和对照品溶液各 20 μL, 分别注入高效液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 以外标法计算样品的量。见图 1。

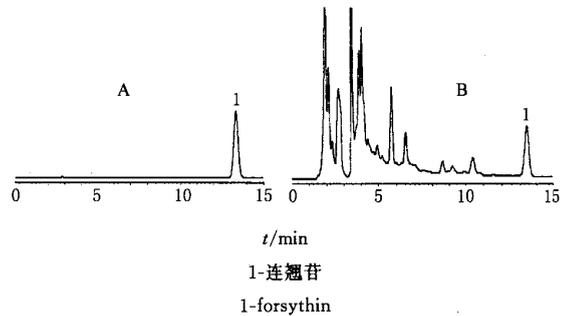


图 1 连翘苷对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of forsythoside reference substance (A) and sample (B)

由图 1 表明, 本法测定基线平稳; 杂质峰对连翘苷的测定无干扰; 虽然 2~4 min 极性大的成分峰较多, 但容易洗脱, 不影响测定。

2.5 线性关系: 分别精密吸取连翘苷储备液适量, 配制成 98.8、49.4、19.8、9.88、4.94、1.98、0.988 μg/mL 连翘苷对照品溶液, 分别进样 20 μL。以连翘苷的质量浓度对色谱峰面积进行回归统计, 回归方

程为 $Y=55\ 420 X+14\ 838$, $r=0.999\ 9$ 。连翘苷在 $0.988\sim 98.8\ \mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 进样,计算得连翘苷峰面积的 RSD 为 1.9% ($n=5$),表明供试品溶液在 8 h 内稳定,均可进行测定。

2.7 精密度试验:取河南青翘供试品溶液,连续进样 6 次,计算得连翘苷峰面积的 RSD 为 1.4% ($n=6$),表明进样精密度良好。

2.8 重现性试验:取同一产地连翘药材 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得其质量分数的 RSD 为 2.2% ($n=6$),表明重现性良好。

2.9 回收率试验:采用加样回收率测定方法。取连翘药材 0.5 g,分别加入定量的连翘苷对照品溶液 1.2、1.0、0.8 mL,制备供试品溶液,依法测定,结果连翘苷的平均回收率为 96.7% ($n=3$),RSD 为 0.4%。

2.10 样品测定:取各产地的老翘和青翘,制备供试品溶液,平行操作 3 份,依法测定。并与《中国药典》方法测定作比较,见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of samples ($n=2$)

产地	连翘苷/%	
	本法	药典法
对照药材	0.23	0.23
河南老翘-1	0.14	0.09
河南老翘-2	0.04	0.01
河南青翘	0.26	0.26
南京青翘-1	0.23	0.23
南京青翘-2	0.25	0.25
南京老翘-1	0.05	0.01
南京老翘-2	0.15	0.12

从表 1 可以看出:《中国药典》规定连翘药材中连翘苷的量不得少于 0.15%,连翘苷的量在 0.2% 以上的样品,两种方法的测定结果基本一致。对于连翘苷的量较低,在 0.15% 以下的样品,两种方法的测定结果差异较大。其原因是《中国药典》法过柱时损失较大,另外 277 nm 处检测灵敏度较低。对于低量样品的测定,《中国药典》法回收率低,重现性差,而本法回收率高、重现性好。

3 讨论

3.1 样品预处理方法选择:在连翘苷的提取方法选择中,主要注意两个因素的影响,一是提取回收率,尽可能地提取完全;二是除去杂质,以免干扰测定或损坏色谱柱。《中国药典》法及文献法^[4,5]都集中于在连翘苷的提取过程中除去杂质,但经试验发现,这些处理过程复杂,重现性差,特别对于低含量样品回收率偏低。而本实验改进后的方法,采用 80% 甲醇直接超声提取,无需除去杂质步骤,操作简便,耗时短,样品损失少,同时杂质对样品的测定不仅无干扰,且容易洗脱。经多次试验证明,柱压没有升高,柱效没有降低,所以按本法制备的供试品溶液中的杂质不损坏色谱柱。

3.2 色谱条件选择:连翘苷对照品溶液在 200~400 nm 有 3 个吸收峰^[6],其中 205 nm 处吸收最强,230 nm 处次之,277 nm 处最弱,并且 205 nm 处的吸收系数相当于 277 nm 处的约 4 倍。《中国药典》法及现有文献报道的连翘苷测定都是采用 277 nm 左右,对于连翘苷量较低的样品的测定结果偏差大。本实验在吸收系数最大的 205 nm 处测定,所以大大提高了灵敏度,排除了其他成分的干扰,适合含连翘苷量较低的样品的测定。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [3] Zhang T, Chen X S. Determination of forsythine in different processing products of *Fructus Forsythiae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(9): 1339-1340.
- [4] Zheng C, Zu Y G, Li Q Y, et al. Application of SPE-Ultrasonic in quality-control of *Fructus Forsythiae* [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2005, 33(6): 894.
- [5] Hou L, Wang Q, Ren J B. Determination of phillyrin in *Fructus Forsythiae* from different places by RP-HPLC [J]. *Res Pract Chin Med* (现代中药研究与实践), 2005, 19(1): 48-50.
- [6] Han G R, Pang G X. Studies on detection wavelength for forsythine [J]. *Drug Stand China* (中国药品标准), 2005, 6(3): 71-73.

连翘中连翘苷HPLC测定方法的改进

作者: [陆红柳](#), [谭喜莹](#), [张飞](#), [赵陆华](#)

作者单位: [药物质量与安全预警教育部重点实验室, 江苏, 南京, 210009; 中国药科大学, 分析测试中心, 江苏, 南京, 210009](#)

刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2007, 38 (6)

被引用次数: 6次

参考文献(6条)

1. Editorial Board of China Herbal State Administration of Traditional Chinese Medicine China [中华本草](#) 1999
2. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
3. Zhang T;Chen X S [Determination of forsythin in different processing products of Fructus Forsythiae](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2005 (09)
4. Zheng C;Zu Y G;Li Q Y [Application of SPE-Ultrasound in quality-control of Fructus Forsythiae](#)[期刊论文]-[分析化学](#) 2005 (06)
5. Hou L;Wang Q;Ren J B [Determination of phillyrin in Fructus Forsythiae from different places by RP-HPLC](#)[期刊论文]-[现代中药研究与实践](#) 2005 (01)
6. Han G R;Pang G X [Studies on detection wavelength for forsythin](#)[期刊论文]-[中国药品标准](#) 2005 (03)

引证文献(6条)

1. [谭喜莹](#), [赵陆华](#), [王淑云](#) [HPLC法测定急咳停颗粒中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[中国药师](#) 2009 (11)
2. [刘宏明](#), [赵昌军](#) [高效液相色谱法测定六味五灵片中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#) 2010 (11)
3. [于春霞](#), [王爱青](#), [王玮](#) [高效液相色谱法测定肾炎解热片中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[山东化工](#) 2011 (11)
4. [史大军](#), [邱海蕴](#), [康红英](#) [HPLC法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[中国药事](#) 2012 (1)
5. [李延雪](#), [孙菲](#), [邵礼梅](#) [HPLC法测定复方苓兰口服液中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[中国医药导报](#) 2012 (26)
6. [索银科](#), [邝小莉](#), [罗兰](#), [李乃高](#) [HPLC法测定退热解毒注射液中连翘苷的含量](#)[期刊论文]-[中国药事](#) 2010 (10)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706055.aspx