

高效液相色谱法测定首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量

成旭东 孙芸 刘扬* (苏州大学药学院,江苏苏州 2152123)

摘要:目的 高效液相法测定首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷成分含量;方法 采用 RP-HPLC,色谱柱 Ultimate XB-C18(4.6mm×250mm,5μm);流动相为乙腈-水(25:75);检测波长 320nm;流速:1mL·min⁻¹;柱温 30℃。结果 3批首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量为 3.895~4.136 mg·g⁻¹。结论 该法稳定、简便,适用于首乌丸制剂质量控制。

关键词:首乌丸 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 高效液相色谱法

Determination of 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu Pills by HPLC

CHENG Xu-dong SUN Yun LIU Yang* (College of Pharmaceutical Science, Soochow University, Jiangsu Suzhou 215123, China)

Abstract: **Objective** Determine of 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu pills. The method of determine 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu pills was established. **Methods** The samples were separated at 30℃ on a Ultimate XB-C18 column(4.6mm×250 mm, 5μm). When 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside was eluted with acetonitrile and water(25:75). The detection wavelength was 320nm.The flow rate was all 1ml·min⁻¹. **Results** The content of 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu pills was 3.895~4.136mg·g⁻¹. **Conclusion** The method was stable and convenient. This method was suitable for the quality control of Shouwu pills.

Key words: Shouwu pills; 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; HPLC;

首乌丸收载于《中国药典》2010版一部中^[1],由制何首乌、地黄、牛膝、桑椹等13味中药精制而成,具有补肝肾,强筋骨,乌须发的功效;用于肝肾两虚,头晕目花,耳鸣,腰酸肢麻,须发早白,高脂血症。《中国药典》2010版新增了对其质量控制指标成分 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量测定,本文详述了对3批首乌丸中的该成分进含量测定的方法。

1 仪器和试剂

Agilent1100 HPLC、Chemstationsys 工作站(美国安捷伦公司),Sartorius CP225D 分析天平(德国赛多利斯公司)。

首乌丸 苏州雷允上雷允上药业有限公司生产,批号:JB7002、JB7008、JB7014,规格:每袋 6g×10袋。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品,购自中国药品生物制品检定所,批号:110844-200607。乙腈为

色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件

2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 色谱条件 色谱柱 Ultimate XB-C18 柱(Φ4.6mm×250mm,5μm);流动相:乙腈-水(25:75)等度洗脱;流速:1mL·min⁻¹;检测波长 320nm;柱温 30℃;进样量:10μL。在此条件下,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷能达到基线分离。HPLC 谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

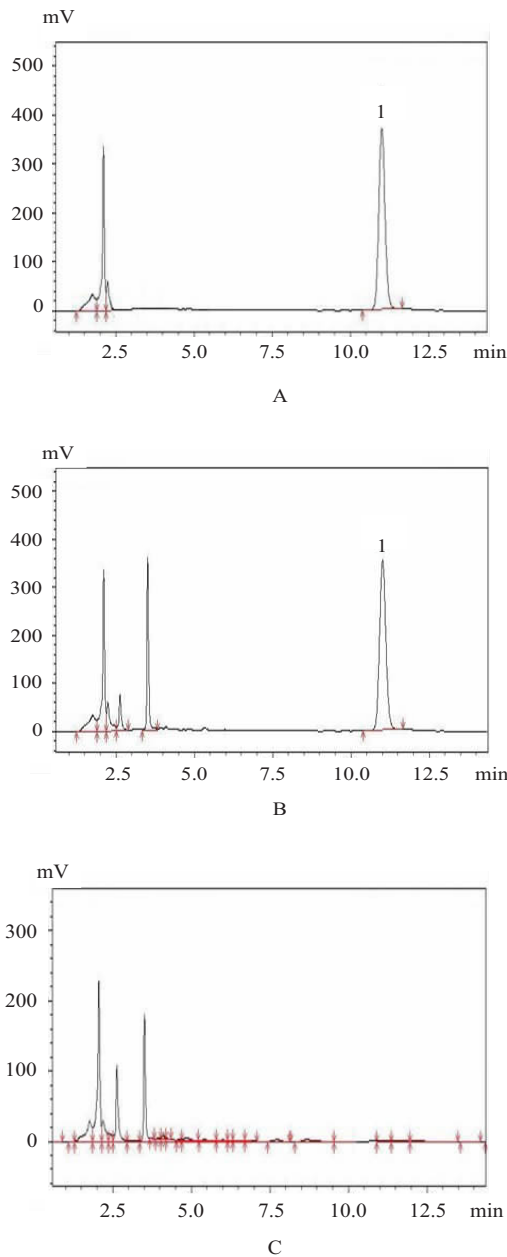
2.2.1 对照品溶液 精密称取经五氧化二磷干燥过夜的 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品约 10mg,置 50mL 量瓶中,用 70%甲醇溶液溶解并定容至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密量取上述对照品储备液 1mL 置 10mL 量瓶中,用 33%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取首乌丸适量,研细,取约 0.4g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 25mL 70%甲醇,密

作者简介: 成旭东,男,硕士,工程师。

***通讯作者:** 刘扬,博士,讲师,药物新技术与新剂型。

E-mail:liuyang@suda.edu.cn



A 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 HPLC 色谱图; B 首乌丸样品 HPLC 色谱图; C 阴性图谱 1 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

图1 HPLC 色谱图

塞 称定重量,加热回流 30 分钟,放冷,70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取滤液作为供试品溶液。

2.2.2 阴性对照溶液 取缺少首乌药材的阴性对照样品,同供试品“2.2.2 供试品溶液”制备项下操作,制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系

从上述对照品储备液中 精密量取 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL 分置于 10mL 量瓶中 加 70%甲醇稀释至刻度,摇匀 制成浓度为 2.05、4.10、8.21、12.31、16.42、20.52 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。分别精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件进行测定,以峰面积 Y 积分值为纵坐标,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷进样量为横坐标进行回归计算得回归方程 $Y=267.64X-61.936$, ($r=0.9998$ 线性范围 0.0205~2.0520 μg)。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 10 μL ,在上述色谱条件下 按“2.1”色谱条件连续进样 6 次,测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积值的 RSD 为 0.79%。

2.5 稳定性试验

精密吸取同一样品溶液 10 μL ,在 0,2,4,6,8,12h 进样,试验结果表明样品溶液在 12h 内稳定,首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积 RSD 为 0.91%。

2.6 重复性试验

称取首乌丸研细粉末,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测峰面积,并计算 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的平均含量为 3.946 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.36% 表明处理后的样品室温放置 12h 内稳定。

2.7 回收率试验

取首乌丸样品(批号 JB7002)的样 6 份,每份约 0.2g 精密称定,置具塞锥形瓶中,按样品含量分别加入对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测峰面积,并计算 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量。计算结果 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷平均回收率为 99.70% RSD 为 1.44% 结果见表 1。

表 1 首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的加样回收率

编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.0787	0.078	0.1562	99.36	99.70	1.44
2	0.0783	0.078	0.1548	98.08		
3	0.0796	0.078	0.1571	99.36		
4	0.0782	0.078	0.158	102.31		
5	0.0795	0.078	0.1567	98.97		
6	0.0781	0.078	0.1562	100.13		

中图分类号:R282 文献标识码:A 文章编号:1672-8629(2012)01-0003-04

HPLC 法同时测定胆宁片中 5 种蒽醌类衍生物含量

张秋蓉¹ 王丽芳² 刘文燕² (¹大理学院临床医学院,云南大理 671000;²大理学院药学院,云南大理 671000)

摘要:目的 建立高效液相色谱法同时测定胆宁片中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 5 个成分含量。方法 采用 Agela Venusil XBP-C18(4.6 mm× 250 mm, 5μm)色谱柱,流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸(B),进行梯度洗脱,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长为 226 nm。结果 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚进样量分别在 0.040~0.800μg、0.040~0.800μg、0.120~2.400μg、0.040~0.800μg、0.040~0.800μg 范围内线性关系良好。平均回收率(n=6)分别为 96.85%、97.48%、98.69%、96.27%、95.68%,RSD 分别为 2.28%、1.72%、1.28%、1.64%、2.62%。结论 该方法准确、可靠、重复性好,可作为该制剂的定量分析方法。

关键词:胆宁片;高效液相色谱法;蒽醌;含量测定

HPLC Simultaneous Determination of Five Kinds of Anthraquinones in Danning Tablets

ZHANG Qiu-rong¹ WANG Li-fang² LIU Wen-yan² (¹Clinical Medicine, Dali University, Yunnan Dali 671000, China; ²Department of Pharmacy, Dali University, Yunnan Dali 671000, China)

Abstract: Objective To develop an HPLC method for determining the contents of aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcione in Danning tablets. **Methods** Agela Venusil XBP-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm) with acetonitrile(A) and 0.1% phosphoric acid(B) as mobile phase by gradient elution, The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 226 nm. **Results** The injection volume of aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcione were 0.040-0.800, 0.040-0.800, 0.120-2.400, 0.040-0.800, 0.040-0.800 μg respectively, The average recovery rates were(n=6) 96.85%(RSD=2.28%), 97.48%(RSD=1.72%), 98.69%(RSD=1.28%), 96.27%(RSD=1.64%),

2.8 样品含量的测定

按“2.2.2”项下处理方法配置,依上述方法分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液 10 L,注入液相色谱仪,以外标法计算 3 批次首乌丸样品中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量,结果见表 2。

表 2 首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷含量测定结果(n=3)

批号	含量(mg·g ⁻¹)	RSD(%)
JB7002	3.946	2.01
JB7008	3.902	2.09
JB7014	3.895	2.01

3 讨论

目前文献报道首乌丸的质量控制方法主要有测定

君药首乌中的蒽醌类物质^[2],还有部分报道测定补骨脂中香豆素类成分^[3],何首乌为方中君药,且处方量最大,2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷为何首乌主要有效成分,因此选择 2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷作为首乌丸的定量控制指标比较科学与合理。

实验结果表明,在该条件下,首乌丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷分离度高、干扰少、方法稳定可靠。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2010:954-955.
- [2] 李静,张莉,曹玲,等.高效液相色谱法测定首乌丸中大黄素的含量[J].中国生化药物杂志,2009,30(2):118-123.
- [3] 宋剑锋,张成川,李亚.RP-HPLC 法测定首乌丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J].中华中医药学刊,2009,27(5):1091-1093.

作者简介:张秋蓉,女,硕士,讲师,内科学相关工作研究。

(收稿日期:2011-09-07 编辑:汤韧)