

高效液相色谱法测定寿星补汁中二苯乙烯苷的含量

石钺, 郑顺亮, 曹阳(中国医学科学院, 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

摘要:目的 建立寿星补汁中二苯乙烯苷的含量测定方法。方法 采用 HPLC, 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (25:75); 检测波长 320 nm。结果 二苯乙烯苷在 0.01282 ~ 0.2564 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 3.5303 \times 10^6 X - 2424.9$, $r = 0.9999$; 平均回收率为 99.44%, RSD 为 0.72%。结论 本法测定寿星补汁中二苯乙烯苷的含量简便、准确、快捷, 可用于寿星补汁的质量控制。

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

中图分类号: R917.101; R289 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)05-0405-02

Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-tilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouxing Buzhi by HPLC

SHI Yue, ZHENG Shun-liang, CAO Yang (Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for the determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-tilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouxing Buzhi. **METHODS** 2,3,5,4'-tetrahydroxy-tilbene-2-O-β-D-glucoside was separated on kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column and detected at 320 nm, with acetonitrile-water (25:75) as a mobile phase. **RESULTS** There was good linearity from 0.01282 to 0.2564 μg ($Y = 3.5303 \times 10^6 X - 2425.9$, $r = 0.9999$) in separation of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-tilbene-2-O-β-D-glucoside. The average recovery was 99.44% with RSD of 0.72%. **CONCLUSION** This method is simple, accurate and rapid. This study provides the reference to establish quality standard for Shouxing Buzhi.

KEY WORDS: HPLC; 2,3,5,4'-tetrahydroxy-tilbene-2-O-β-D-glucoside; Shouxing Buzhi

寿星补汁为已有国家标准的药品, 由山药、山楂(炒)、制何首乌、党参、白术(炒)、茯苓、干姜、当归、桂枝、甘草(蜜炙)、白芍(炒)、麦冬、熟地黄十三味药组成。该药具有益气养血, 调理脾胃之功效, 临床上用于年老衰弱, 病后体虚, 疲乏无力, 食欲减退, 肢痛麻木, 失眠多梦等症。原质量标准中未收载含量测定项, 为有效控制寿星补汁的质量, 笔者参照中国药典方法^[1], 利用 HPLC 对方中制何首乌的指标性成分 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量进行了测定, 并对该方法学进行考察, 研究报道如下。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

岛津 LC-2010A 型高效液相色谱仪 (CLASS-VP 色谱工作站, 日本岛津公司), TU-1800 型紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司), METTLER AB135-S 型电子天平 (瑞士梅特勒公司), KQ-250DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司, 220 V, 250 W, 40 KHz)。

1.2 试剂与药品

2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110844-200404, 供含量测定用); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。寿星补汁 (北京联慧仁和医药科技有限公司)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件及系统适用性

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (25:75); 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 35 °C; 检测波长 320 nm。理论板数按 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰计算应不低于 2000, 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的分离度 $R \geq 1.6$ 。

对照品溶液的制备: 精密称取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 6.41 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加稀乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液; 精密吸取储备液 1.0 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 (每 1 mL 中含 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 0.01282 mg)。

供试品溶液的制备: 精密量取寿星补汁 0.5 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

阴性对照液的制备: 按本品制剂工艺制备不含制何首乌的制剂, 同供试品溶液制备方法制备, 作为阴性对照液, 备用。

在前述色谱条件下, 分别取供试品溶液、对照品溶液及阴性对照液 10 μL 进样, 结果表明, 对照品峰与阴性对照液

杂质峰没有重叠,分离效果良好。

2.2 线性关系考察

分别精密量取上述对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪中,记录峰面积,以 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷进样量(μg)为横坐标,相应峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程: $Y = 3.5108 \times 10^6 X - 2424.5$, $r = 0.9999$,线性范围:0.01282 ~ 0.2564 μg 。

2.3 精密度试验

取同一浓度的对照品溶液重复进样 5 次,每次 10 μL ,测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷峰面积并计算其相对标准偏差,测定结果 RSD 为 0.24% ($n = 5$)。

2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 各进样 10 μL 分析,结果 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷峰面积的 RSD 为 0.21%。

2.5 重复性试验

同一批样品分别称取 5 份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液并进行测定,每次进样 10 μL ,结果 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 0.5675 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, RSD 为 0.25%。

2.6 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品 6 份,分别加入 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品适量,按“2.1”方法制备供试品溶液并进行测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 Experiment for the rate of sample recovery

已知量 /mg	加入量 /mg	测定总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.07037	0.06410	0.13453	100.09		
0.07037	0.06410	0.13337	98.28		
0.07037	0.06410	0.13426	99.67	99.44	0.72
0.07037	0.06410	0.13415	99.49		
0.07037	0.06410	0.13456	100.15		
0.07037	0.06410	0.13378	98.93		

2.7 样品含量测定

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算,即得。每批样品各测 2 次,结果见表 2。

表 2 样品含量测定

Tab 2 Determination for samples of different batch

批号	2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷含量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$		
	1	2	平均值
050110	0.5670	0.5624	0.5647
050111	0.5679	0.5665	0.5672
050112	0.5676	0.5680	0.5678
050306	0.5542	0.5538	0.5540
050307	0.5517	0.5541	0.5529
050308	0.5550	0.5571	0.5561
050309	0.5540	0.5529	0.5535
050412	0.6153	0.6203	0.6178
050414	0.6255	0.6317	0.6286
050415	0.6203	0.6134	0.6186

3 讨论

3.1 二苯乙烯苷类成分在乙醇溶液中不稳定,实验中发现对照品溶液放置 2 d 后,含量会逐渐降低。因此,配制溶液时以稀乙醇溶液,并且在测定时的对照品溶液临用前配制,测定结果比较准确。

3.2 寿星补汁中制何首乌为方中君药,二苯乙烯苷是制何首乌的主要有效成分之一。本实验采用高效液相色谱法测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷的含量,方法简便、准确、快速,测定条件下制剂中的其他组分对二苯乙烯苷的出峰基本无干扰,专属性较强,可用于该品的质量控制。

REFERENCES

- [1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部)[S]. 2005: 123.

收稿日期:2006-12-28