

高效液相色谱法测定骨友灵搽剂中二苯乙烯苷的含量

车晓彦,李毅,邓晓鸿,余晓琴(四川省食品药品检验所,成都 610036)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定骨友灵搽剂中含量的方法。方法 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱,乙腈-水(5:20)为流动相;检测波长 320nm。结果 二苯乙烯苷线性范围为 0.0224~0.672μg ($r=0.9999$),平均回收率 98.9%,RSD=1.60% ($n=6$)。

结论 该方法简便、灵敏、准确,可用于骨友灵搽剂的质量控制。

关键词:高效液相色谱法;骨友灵搽剂;二苯乙烯苷

中图分类号:R917.792.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)01-0070-02

Determination of the Content of 2, 3, 5, 4' Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Guyouling Liniment by HPLC

CHE Xiao-yan, LI Yi, DENG Xiao-hong, YU Xiao-qin (Sichuan Provincial Institute for Drug Control, Chengdu 610036, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of the content of 2, 3, 5, 4' tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Guyouling liniment. **METHODS** Kromasil C₁₈ column was used. The acetonitrile: water (5:20) was used as the mobile phase. The detection wavelength was set as 320nm. **RESULTS** The linear range was 0.0224~0.672μg ($r=0.9999$). The average recovery was 98.9% with RSD of 1.60%. **CONCLUSION** The method is simple, reliable and accurate. It can be used to control the quality of Guyouling liniment.

KEY WORDS: HPLC; Guyouling liniment; 2, 3, 5, 4' tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside

骨友灵搽剂为《卫生部标准》中药成方制剂第七册所收载,是由红花、川乌、制何首乌、续断等十味药制成的中药复方

制剂,具活血化痰、消肿止痛之功效,临床用于治疗骨质增生引起的功能性障碍,组织损伤及大关节病引起的肿胀、疼痛等

症。原标准无含量测定项。笔者采用高效液相色谱法测定方中制何首乌中的有效成分二苯乙烯苷的含量。该方法简单、快速、准确,为控制该药品的内在质量提供了可靠方法。

1 仪器和试剂

日本岛津 LC-10A_{vp} 高效液相色谱仪,包括 SPD 10A_{vp} 紫外可见光检测器、CLASS_{vp} 色谱数据处理工作站;二苯乙烯苷对照品(中国药品生物制品检定所,含量测定用,批号:110844-200404);甲醇、乙腈为色谱纯;其余试剂为分析纯;水为超纯水;骨友灵搽剂(太极集团·绵阳制药有限公司提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (5 μ , 4.6 mm \times 200 mm),流动相为乙腈-水(5:20),检测波长为 320 nm,流速 0.8 mL \cdot min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,理论板数按二苯乙烯苷峰计应不低于 2000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取二苯乙烯苷对照品 7.5mg,置 25mL 棕色量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1mL,置 10mL 棕色量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,制成每 1mL 含二苯乙烯苷 30 μ g 的溶液作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品 1mL,置 10mL 棕色量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。

2.2.3 空白溶液的制备 按处方比例制成不含制何首乌的空白样品。并按“2.2.2”项下方法制成空白溶液。

2.3 系统适应性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液及空白溶液各 5 μ L,注入液相色谱仪。样品中二苯乙烯苷峰与杂质峰完全分离,空白色谱图中与二苯乙烯苷对照品相同的保留时间处无其他杂质峰。

2.4 线性关系考察

精密吸取浓度为 0.002 24 mg/mL 的二苯乙烯苷对照品溶液 10, 30, 0.022 4 mg/mL 的对照品溶液 5, 10, 20, 30 μ L,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。以二苯乙烯苷葡萄糖苷对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线图,得回归方程为, $Y = 3.6034E + 06X + 2.8840E + 03$, $r = 0.9999$ 。测定结果提示:二苯乙烯苷进样量在 0.022 4 ~ 0.672 μ g 内线性关系良好。

2.5 精密度考察

精密吸取二苯乙烯苷对照品溶液 5 μ L,注入液相色谱仪 5 次,记录色谱图,按峰面积计算,平均值为 424198, RSD = 0.64%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性考察

精密吸取供试品溶液 5 μ L,在室温避光放置 0, 2, 4, 8, 16, 24h 间隔进样分析,测定色谱峰面积,其平均值为 479746, RSD = 1.23%。结果表明,供试品在避光保存条件

下,24h 内测定结果稳定。

2.7 重复性试验

取骨友灵搽剂样品按“2.2.2”项下供试品制备方法平行操作 5 次,并测定含量,结果平均含量为 0.311 mg/mL, RSD = 1.04%,表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知准确含量的样品溶液(0.362 mg/mL) 5 mL,加稀乙醇稀释至 10 mL,摇匀,精密量取 1 mL,平行操作 6 份,加稀乙醇稀释至 10 mL,摇匀,精密量取 1 mL,各加入一定量的二苯乙烯苷对照品,按“2.2.2”项下供试品制备方法制备,按样品含量测定方法测定含量,计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n = 6$)

序号	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.181	0.184	0.365	99.81	98.9	1.60
2	0.181	0.184	0.364	99.62		
3	0.181	0.184	0.366	100.30		
4	0.181	0.184	0.365	99.81		
5	0.181	0.184	0.361	97.85		
6	0.181	0.184	0.358	96.19		

结果表明加样回收率平均值为 98.9%, RSD 为 1.60% ($n = 6$)。

2.9 样品的测定

取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,进样分析测定,按外标法(用峰面积计)计算含量,5 批样品的含量测定结果见表 2。

表 2 样品的测定结果 ($n = 2$)

Tab 2 Determination result of samples (mg \cdot mL⁻¹, $n = 2$)

批次	含量		平均 /mg \cdot mL ⁻¹
	/mg \cdot mL ⁻¹ , $n = 2$		
1	0.328	0.329	0.329
2	0.363	0.361	0.362
3	0.319	0.316	0.318
4	0.301	0.299	0.300
5	0.287	0.285	0.286

3 讨论

3.1 二苯乙烯苷因其成分对光不稳定,须避光操作,在避光条件下,室温考察 24h,测定结果稳定。

3.2 流动性的选择 试验中曾采用乙腈-水(5:20)及甲醇-水(35:65),以前者效果较好,样品中二苯乙烯苷峰与杂质峰完全分开,10 < t < 20,满足含量测定的要求。

3.3 测定波长的选择 对二苯乙烯苷峰的光谱扫描可知,其最大吸收波长为 322nm,这与中国药典何首乌含量测定项下 320nm 的测定波长几乎无差异,为与药典保持一致,选择 320nm 为测定波长。

参考文献

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

收稿日期:2006-01-18