

度、比例的等度和梯度洗脱,并记录了 220、254、270、300、344、360 nm 等不同波长的色谱图。结果表明,用甲醇-1%醋酸进行梯度洗脱,流速 1 ml·min⁻¹,测定波长 270 nm 的条件为佳。在此条件下,腺苷与板蓝根颗粒剂中的其他组分可得到较好的分离。文中方法具有样品预处理简单、方法回收率高、重复性

好、稳定等特点,可用于板蓝根颗粒的质量控制。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].北京:化学工业出版社,2000.490

收稿日期:2004-11

HPLC 测定制首乌及首乌延寿片中二苯乙烯苷的含量

李 涛,王天志

(四川大学华西药学院,四川 成都 610041)

摘要:目的 建立原药材制首乌及首乌延寿片中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(THPG)的含量测定方法。方法 采用 HPLC 法,Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为乙腈-水(24:76),检测波长 320 nm,柱温 30℃,流速 1 ml·min⁻¹。结果 回归方程为:Y=7.356×10³X-2.126×10⁴(r=0.9998),线性范围 80~630 ng。平均回收率为 98.32%,RSD=0.57%。结论 方法简便、准确、快速、灵敏、重复性好,可用于原药材制首乌及首乌延寿片制剂的质量控制。

关键词:首乌延寿片;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(THPG);HPLC

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1006-0103(2005)05-0436-03

Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxydiphenylethylene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu Yanshou tablet and Polygonum multiflorum Thunb. by HPLC

LI Tao, WANG Tian-zhi

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a method for determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxydiphenylethylene-2-O-β-D-glucoside (THPG) in Shouwu Yanshou tablet and *Polygonum multiflorum* Thunb. by HPLC. **METHODS** Diamonsil ODS-C₁₈ column was used with acetonitrile-water (24:76) as mobile phase, the flow rate being 1 ml·min⁻¹, the column temperature being 30℃ and UV detection at 320 nm. **RESULTS** The linear equation of THPG was Y=7.356×10³X-2.126×10⁴(r=0.9998), with the average recovery of 98.32% and the relative standard deviations of 0.57%. **CONCLUSION** This method is simple, accurate, rapid, sensitive and reproducible. It could be used for quality control of Shouwu Yanshou preparations.

Key words: Shouwu Yanshou tablet; 2,3,5,4'-Tetrahydroxydiphenylethylene-2-O-β-D-glucoside (THPG); HPLC

CLC number: R927.2

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2005)05-0436-03

首乌延寿片是由何首乌制成的浸膏片,具有补肝肾、养精血等功效,主治因肝肾两虚、精血不足而致的头晕目眩、耳鸣健忘、鬓发早白、腰膝酸软等症。何首乌为方中主药,其主要有效成分有二苯乙烯苷(即 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷,THPG)、大黄酚、大黄素、大黄酸、大黄素甲醚等。THPG 具有降低大鼠血清中总胆固醇及抗氧化、清除自由基等作用^[1,2],是主要有效成分之一,可作为何首乌及含何首乌制剂的主要质量控制指标。目前,中药复方制剂中 THPG 的含量测定主要有 TLC-UV 法、薄层扫描法及 HPLC 法^[3]等。现建立 HPLC 法测定制首乌及首乌延寿片中 THPG 的含量,具有准确、灵敏、简便、快速、重现性好等优点,为

其质量控制提供了快速、准确的含量测定方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津),包括 SPD-10A 型紫外可见光检测器,CTO-10A 型柱恒温箱,C-R7Ae 数据处理机;Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);自填国产 YWGC₁₈(10 mm×4.6 mm,5 μm)保护柱;超声清洗器(功率 150 W,频率 40 kHz);AB104-N 型分析天平(Mettler Toledo)。THPG 对照品(含量测定用,中国药品生物制品检定所);乙腈为 Merck 色谱纯;水为超纯水;样品(自制)。

作者简介:李涛(1971-),男,西安,硕士,讲师,从事天然药物(包括民族药)及其制剂的研发工作。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件与结果 流动相为乙腈 - 水(24 : 76),检测波长 320 nm,柱温为 30 ℃,流速 1 ml · min⁻¹。在此条件下所得色谱图见图 1。由图 1 可见,样品中的 THPG 与其他相关峰能达基线分离,阴性样品对 THPG 的测定无干扰。

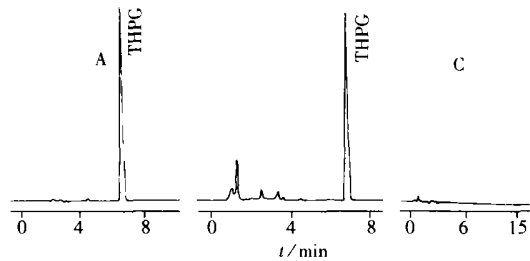


图 1 对照品(A)、样品(B)和缺何首乌阴性样品(C)色谱图
Fig 1 Chromatograms of control (A), sample(B) and negative control (C)

1.2.2 溶液的制备 精密称取 60 ℃真空干燥 6 h 的 THPG 对照品 10 mg,置 50 ml 棕色量瓶中,加稀乙醇 20 ml 溶解后定容,得对照品溶液 I(0.2 mg ml⁻¹);精密吸取对照品溶液 I 2 ml 至 10 ml 棕色量瓶中,加稀乙醇定容,得对照品溶液 II(0.04 mg ml⁻¹)。

精密称取本品粉末约 0.2 g,置具塞锥形瓶中,精密加稀乙醇 25 ml,密塞,摇匀,称定重量后,加热回流 30 min,取出,放冷,稀乙醇补足减失重量,摇匀,上清液 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。同法制得缺何首乌的阴性样品对照液。

1.2.3 线性关系考察 分别取 THPG 对照品溶液 II 2、5、8、10、12、15、18 μl,在“1.2.1”项条件下注入色谱仪,测其峰面积。以对照品平均峰面积值 Y 为纵坐标,对照品进样量 X (ng) 为横坐标,其回归方程为: $Y = 7.356 \times 10^3 X - 2.126 \times 10^4$ ($r = 0.9998$)。THPG 在 80~630 ng 范围内,进样量与峰面积之间呈良好的线性关系。

1.2.4 精密度实验 精密吸取对照品溶液 II,重复进样 6 次,每次 10 μl,测得 THPG 峰面积的 RSD = 1.06 %,表明进样精密度良好。

1.2.5 溶液的稳定性实验 分别于 0、2、4、6、8、16、24 h 精密吸取低温避光保存的对照品液 II 10 μl 注入液相色谱仪,其峰面积的 RSD = 1.34 %。另取用样品(批号:040802),按“1.2.2”项下方法制备成供试品溶液,再按照上述对照品溶液同法进样,其峰面积的 RSD = 0.95 %。结果表明,对照品和供试品溶液均在 24 h 内稳定。

1.2.6 重复性试验 取同一批样品(批号:040802)按“1.2.9”项下方法平行测定 5 份,每片 THPG 的平均含量为 1.2669 mg, RSD = 0.97 % (n = 5),表明分

析方法精密度(重复性)良好。

1.2.7 加样回收实验 精密称取已知 THPG 含量的样品(批号:040802、1.2669 mg)粉末(过 60 目) 6 份,每份约 0.1 g,精密称定,分 3 组(每组 2 份),各组按其已知 THPG 含量约 0.8、1.0、1.2 倍加入 THPG 对照品溶液(0.52 mg ml⁻¹),混匀后按“1.2.9”项下方法测定 THPG 含量,计算回收率(表 1)。

表 1 样品加样回收率实验

Table 1 The results of recovery test					
Original/ mg	Added/ mg	Detected/ mg	Recovery/ %	$\bar{X}$ / %	RSD/ %
0.5104	0.416	0.9178	97.93	98.32	0.57
0.5178	0.416	0.9298	99.04		
0.5203	0.520	1.0312	98.25		
0.5020	0.520	1.0154	98.73		
0.5321	0.624	1.1467	98.49		
0.5420	0.624	1.1502	97.47		

1.2.8 耐用性考察 分别使用 3 种色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm ×250 mm,5 μm);美国奥泰 Alltima C₁₈ 柱(4.6 mm ×250 mm,5 μm);日本岛津的 Shimpack CLC - ODS 柱(6.0 mm ×150 mm,5 μm),并对同批(批号:040802)样品进行含量测定(表 2)。

表 2 不同色谱柱对同一样品测定的比较

Table 2 Comparison of the sample content in the same batch determined with different HPLC columns		
Column	Contents/ mg	RSD/ %
Diamonsil C ₁₈ 柱	1.2725	0.93
美国奥泰 Alltima C ₁₈ 柱	1.2846	
日本岛津的 Shimpack CLC - ODS 柱	1.2609	

1.2.9 样品的含量测定 取片粉或制首乌药材粉末(过 60 目筛),分别按“1.2.2”项下方法制备成供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液 II 与供试品溶液 10 μl,进样分析,按外标法以峰面积计算样品中 THPG 的含量(表 3)。

表 3 样品中 THPG 的含量测定结果(n = 3)

Tablet		Material	
$\bar{X}$ / mg	RSD/ %	$\bar{X}$ / mg	RSD/ %
1.2901	1.36	1.9245	0.78
1.2725	1.08	1.9056	1.03
1.2968	1.02	1.9540	1.05

2 讨论

文中方法简便、准确、快速、灵敏、重复性好,可作为样品中二苯乙烯苷的含量控制方法。二苯乙烯苷见光易分解,其溶液应置棕色量瓶中保存,尽量避光操作,使分析结果准确可靠。

参考文献:

[1] Ryu G, Ju JH, Park YJ, et al. The radical scavenging effects of stil-

- bene glycosides from Polygonum multiflorum[J]. Arch Pharm Res, 2002, 25 (5) :636
- [2] Arichi H, Kimura Y, Okuda H, et al. Effects of stilbene components of the roots of Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. On lipid metabolism[J]. Chem pharm Bull, 1982, 30 (5) :1766
- [3] 杜钢,安淑芳,刘仲义. HPLC 测定乌荑苳苳口服液中 THPG 的含量[J]. 华西药学期刊,2003,18 (4) :297
- 收稿日期:2005 - 03

β - 葡聚糖含量测定方法的比较

熊荣君¹,王 新²,张红霞³

(1. 四川大学华西药学院,四川 成都 610041;2. 西藏喜卡青稞科技发展有限公司,四川 成都 610041;3. 西南民族大学化学与环境工程保护工程学院,四川 成都 610041)

摘要:目的 筛选β - 葡聚糖含量测定的最佳方法。方法 分别采用苯酚 - 硫酸法、刚果红法、双酶法和改良双酶法测定β - 葡聚糖含量,并比较结果。结果 双酶法和改良双酶法比苯酚 - 硫酸法、刚果红法有更好的准确度和精密度。结论 双酶法和改良双酶法是较好的β - 葡聚糖含量测定方法;改良双酶法更加快速,适合工业化生产的需要。

关键词:β - 葡聚糖;苯酚 - 硫酸法;刚果红法;双酶法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103(2005)05 - 0438 - 03

Comparison and improvement of the assay methods for β - glucan

XIONG Mo - jun¹, WANG Xin², ZHANG Hong - xia³

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Tibet Xika Barley Technology Development Co. Ltd, Chengdu 610041, China; 3. College of Chemistry and Environmental Protection, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To select a better assay method for β - glucan. **METHODS** The content of β - glucan determined by phenol - sulfuric acid method, Congo red method, two enzymes method and modified two enzymes method, respectively and compare these four methods. **RESULTS** The two enzymes method and the modified two enzymes method were better in accuracy and precision than the other methods. **CONCLUSION** Two enzymes method and the modified two enzymes method are better methods for determining the content of β - glucan, while the latter method adapts industrialized production for its speediness.

Key words: β - glucan; Phenolsulfuric acid method; Congo red method; Two enzymes method

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103(2005)05 - 0438 - 03

由于β - 葡聚糖特殊的生理活性,近年来对其研究与开发逐步升温。在欧美市场β - 葡聚糖的销量每年都呈明显上升趋势^[1]。西藏青稞中β - 葡聚糖的含量高,非常适合工业化提取^[2]。但国内尚无企业进行生产性提取,除生产工艺、提取技术受限外,测定β - 葡聚糖含量的方法缺陷也是重要原因之一。为此,我们对β - 葡聚糖的含量测定方法进行对比和改进,以适应工业化生产的要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV - 2102C 紫外可见分光光度计(日本岛津);十万分之一电子天平(德国 SartoriusBS210S);LD4 - 2 低速离心机(北京医用离心机厂)。藏青 85 号种子(四川大学生命科学院β - 葡聚糖含量 6.2 %);冬青 1 号种子(四川大学生命科学院β - 葡聚糖含

量 5.7 %);大麦(Barley β - 葡聚糖含量 5.4 %,爱尔兰 Megazyme 公司);燕麦(Oat β - 葡聚糖已知含量 6.4 %,爱尔兰 Megazyme 公司);β - 葡聚糖粉 1(加拿大 Cevena 公司,含量 68.7 %);β - 葡聚糖粉 2(西藏喜卡青稞科技发展有限公司,42.5 %)。β - 葡聚糖测定试剂盒 1(中国啤酒协会,刚果红法);β - 葡聚糖测定试剂盒 2(双酶法)、苔藓酶(爱尔兰 Megazyme 公司);其余试剂均为分析纯。

1.2 方法和结果

供试品粉碎后过 40 目筛,经 60 °C 干燥 4 h,编号分组。分别用苯酚 - H₂SO₄ 法、刚果红法、双酶法、改良双酶法测定β - 葡聚糖含量。与标示量相比,计算相对误差。

1.2.1 苯酚 - 硫酸法 精密称取 D - 葡萄糖对照品 10 mg,蒸馏水定容至 100 ml,精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 ml,置 6 支具塞刻度试管中,加

作者简介:熊荣君(1973 -),女,四川成都,本科,实验师,从事药物分析实验室工作。