

2. 曾以药典癭清片项下方法将对照品用甲醇溶解, 但所得结果不稳定, 无法制成标准曲线, 经试验摸索, 将对照品用流动相溶解所得结果较稳定。

参考文献

[1] 《中华人民共和国药典》(2000 年版一部) 629 页
[2] 王宝荣等著 《成药质量标准与标准物质研究》394 页

首乌丸中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的 HPLC 法测定

刘柏龙¹ 杨 锡¹ 赵建邦¹ 徐培元¹ 缪苗苗² (1. 甘肃省药品检验所, 兰州 730000; 2. 兰州大学医学院药学院 2005 级毕业生, 兰州市 730000)

摘要 目的: 建立首乌丸中二苯乙烯苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 选用 C₁₈ ODS (250mm × 4. 6mm) 色谱柱。流动相: 乙腈-水 (20 : 80)。检测波长: 320nm。结果: 二苯乙烯苷在 0. 4556~2. 278μg 范围内呈良好的线性关系, r= 0. 9999, 样品的平均加样回收率为 96. 28%, RSD= 0. 32%, n= 5。结论: 本法简便, 快速, 结果准确可靠, 可作为该制剂定量控制依据。
关键词 二苯乙烯苷; 首乌丸 高效液相色谱法

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

Liu Bai-long¹, Yang Xi¹, Zhao Jian-bang¹, Xu Pei-yuan¹, Liao Miao-miao² (1. Gansu Provincial Institute for Drug Control, Lanzhou 730000; 2. Pharmacy School of Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the determination of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shouwu Pills. **Method:** Da Lian Yi Li Te C₁₈ was used as the stationary phase. Acetonitrile-water (20 : 80) was used as mobile phase. Detection wavelength was 320nm. **Results:** The linear correlation was good in the range of 0. 4556~2. 278μg. Correlation coefficient is 0. 9999. The average recovery was 96. 28% and the RSD was 0. 32%. **Conclusion:** The results showed that this method is simple, accurate and reliable. The method can be used for the quality control of Shouwu Pills.
Key Words 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; Shouwu Pills; HPLC

首乌龙收载于《中国药典》(2005 年版一部)。由制何首乌、女贞子、补骨脂等 13 味中药组成。具有补肝肾, 强筋骨, 乌须发之功效。临床上主要用于肝肾两虚, 头晕目花, 耳鸣, 腰酸肢麻, 须发早白, 高脂血等症的治疗。其中何首乌为处方的君药。该药品标准仅有何首乌中大黄素甲醚、大黄素, 补骨脂中补骨脂素、异补骨脂素的薄层鉴别, 无定量控制指标, 为此, 本文应用高效液相色谱法对处方君药何首乌所含主要有效成分 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量测定方法进行了研究, 为该药品提供了定量评价标准。

一、仪器与试药

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津); Mettler AE 160 电子天平(瑞士); KQ-250B 超声波清洗器(上海); 二苯乙烯苷由中国药品生物制品检定所提供(批号 0844-9801); 首乌丸为甘肃天水歧黄药业有限公司提供(批号: 050107, 050108, 050109);

HPLC 所用乙腈为色谱纯, 超纯水, 其他均为分析纯。
二、实验方法与结果

1. 对照品溶液制备 精密称取二苯乙烯苷对照品, 加乙醇制成每 ml 含 0. 2mg 的溶液, 即得。
2. 供试品溶液制备 取本品, 研细, 取细粉约 0. 5g, 精密称定, 置具塞三角瓶, 精密加入 70% 乙醇 25ml, 密塞, 称定重量, 加热回流 30min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。
3. 阴性空白对照液制备 按处方比例及制备工艺配制不含何首乌的空白对照品, 并按上述供试品溶液制备方法, 制成阴性空白对照品。
4. 色谱条件 C₁₈ ODS 色谱柱 (250mm × 4. 6mm, 大连依利特); 流动相: 乙腈-水 (20 : 80); 流速: 1. 5ml/min; 检测波长: 320nm; (二苯乙烯苷紫外吸收曲线见图 1, 在 320nm 处有最大吸收), 理论塔板数按二苯乙烯苷峰计应不小于 5000, 色谱峰见图 2。

5. 空白试验

精密吸取上述 2.3 项下的阴性空白对照液 10 μ l, 注入高效液相色谱仪, 在与供试品测定相同的色谱条件下, 记录色谱峰流出曲线, 结果见图 2。阴性空白色谱中, 在与二苯乙烯苷保留时间相同位置, 无色谱峰出现, 表明处方中其他药材对二苯乙烯苷的测定无干扰。

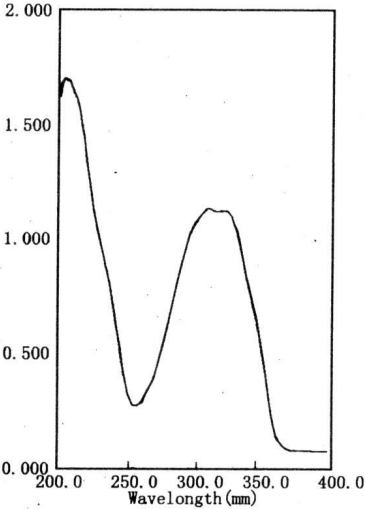
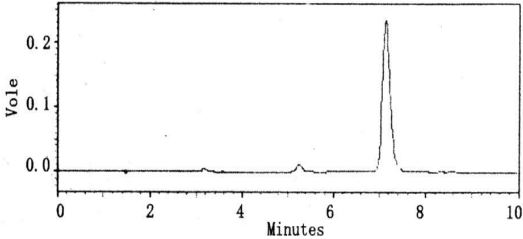
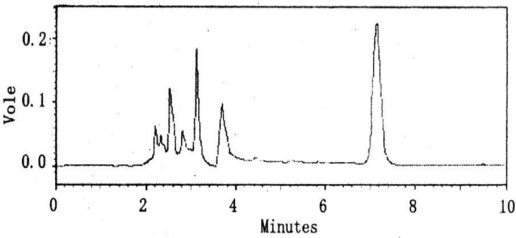


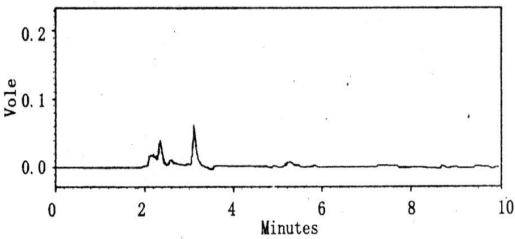
图 1 二苯乙烯苷紫外吸收曲线



对照品溶液 HPLC 色谱图



供试品溶液 HPLC 色谱图



阴性空白溶液 HPLC 色谱图

图 2 含量测定色谱图流出曲线

6. 线性关系试验

精密吸取二苯乙烯苷对照品溶液 2 μ l、4 μ l、6 μ l、8 μ l、10 μ l, 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 二苯乙烯苷进样浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程: $A = 3.10 \times 10^6 C + 3.23 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 二苯乙烯苷进样量在 0.4556–2.278 μ g 范围内具有良好的线性关系。

7. 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μ l, 注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, RSD 为 0.11%。

8. 稳定性试验

取同一供试品溶液, 精密吸取 10 μ l, 注入液相色谱仪, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24h 时各进样一次, 结果峰面积基本不变。

9. 重复性试验

取同一批号样品 5 份, 依法制成供试品溶液, 分别测定二苯乙烯苷含量, 结果 RSD 为 1.31%。

10. 加样回收试验

称取已知二苯乙烯苷含量(0.4792mg/g)的供试品 0.1g5 份, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入二苯乙烯苷对照品溶液 5ml(浓度为 0.2278mg/ml), 再精密加入 70% 乙醇 20ml, 称定重量, 加热回流 30min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失重量, 摇匀, 过滤, 取续滤液注入高效液相色谱仪, 测定样品中二苯乙烯苷的实际含量, 计算回收率, 结果见表 5。

表 5 加样回收试验结果

样品中二 苯乙烯苷 的量(mg)	加入二苯 乙烯苷的 量(mg)	测出二苯 乙烯苷的 量(mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.4847	1.139	1.5827	96.4		
0.4815	1.139	1.5829	96.7		
0.4802	1.139	1.5748	96.1	96.28	0.32
0.4813	1.139	1.5736	95.9		
0.4684	1.139	1.5653	96.3		

11. 样品测定 结果见表 6。

表 6 样品测定结果

批号	含量(mg/g)		平均值(mg/g)
050107	4.3175	4.4148	4.3662
050108	4.2484	4.4602	4.3543
050109	4.2248	4.4293	4.3270

三、讨论

1. 取 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷对照品用流动相溶解, 在 200nm~400nm 范围进行光谱扫描, 结果 λ_{max} 为 320nm。

2. 本法简便、快速、灵敏、重复性好, 可作首乌丸的定量控制依据。