

高效液相色谱法测定养血安神丸中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量

罗晨曲,吕情花(娄底市食品药品检验检测所,湖南 娄底 417000)

[摘要] 目的 建立 HPLC 法测定养血安神丸中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量。方法 用 Waters C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相:乙腈-水(20:80),流速:1.00 ml/min,检测波长:320 nm。结果 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷在 0.086 7 ~ 1.083 5 μg 范围内与峰面积线性关系好, $r=0.999 8$, 平均回收率为 99.2%, RSD 为 1.1% ($n=9$)。结论 本法测定简便,结果准确,灵敏度高,重复性好,可用于养血安神丸的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法;养血安神丸;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷;含量测定

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)05-0386-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.05.020

Determination of 2,3,5,4'-stilbene glucoside in Yangxueanshen Pills by HPLC

LUO Chen-qu, LV Qing-hua (Loudi Institute for Drug control, Loudi 417000, China)

[Abstract] **Objective** To establish a HPLC method for determination of stilbene glucoside in Yangxueanshen Pills. **Methods** The Waters C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile-water (20:80). The flow rate was 1.0 ml/min. The detection wavelength was 320 nm. **Results** The linear range was 0.086 7 μg ~ 1.083 5 μg ($r=0.999 8$). The average recovery was 99.2% with RSD = 1.1% ($n=9$). **Conclusion** The determination method was simple, accurate, sensitive and reproducible which could be used for quality control of Yangxueanshen Pills.

[Key words] HPLC; Yangxueanshen Pills; 2,3,5,4'-stilbene glucoside; determination

养血安神丸由首乌藤、鸡血藤、熟地黄、地黄、合欢皮、墨旱莲、仙鹤草等七味药材组成,具有养血安神的功效,用于失眠多梦、心悸头晕。该药收载于《卫生部药品标准·中药成分制剂(第一册)》,仅规定了定性检查。曾有过该制剂质量标准研究的报道^[1],主要是测定了首乌藤中大黄素的含量,本文对首乌藤另一个活性成分 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量测定。本法操作简便,重复性好,结果准确。可用于养血安神丸的质量控制。

1 仪器与试剂

SHIMADZU LC-20AT 高效液相色谱仪。AG135 电子天平。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品(中国药品检验所,批号 110844-200908,含量 95.4%);养血安神丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号:1077332、1077335、1077341);制备阴性样品所需药材(市场

购买);水为 I 级纯化水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

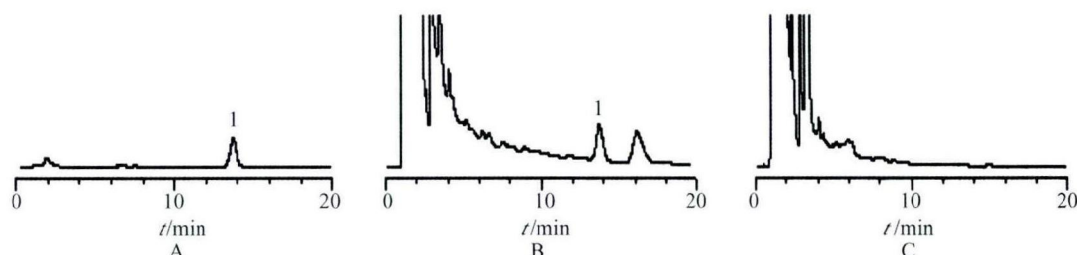
2.1 色谱条件 色谱柱:Waters C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温:30 ℃,流动相:乙腈-水(20:80)^[1],流速:1.00 ml/min,检测波长:320 nm。

2.2 溶液的制备 避光操作。取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品适量,加 50% 甲醇制成 0.216 7 mg/ml 的溶液,作为储备液。取 2.00 ml 储备液,加 50% 甲醇稀释至 10.00 ml,即 43.34 μg/ml 对照品溶液。精密取本品 10 g,置具塞锥形瓶中,加 50% 甲醇 25.00 ml,称重,超声 30 min,放冷,加 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。另按处方比例制备不含首乌藤药材的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验 分别取对照品溶液、样品溶液、阴性对照溶液 10.00 μl 进样,色谱图见图 1。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰保留时间为 13.380 min,与相邻组分分离度为 3.7,理论

[作者简介] 罗晨曲(1964-),男,主任药师。Tel:(0738)8229686, E-mail:369973319@qq.com.

板数为3 669,表明该色谱条件下,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的柱效和分离度均达到了药典要求^[2]。阴性对照溶液色谱图在2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰位置无干扰峰,见图1。



养血安神丸中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 HPLC 色谱图
A-对照组;B-阴性对照组;C-样品;1-2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液2、5、10、15、20、25 μl,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标(Y),以进样量为横坐标(X),进行线性回归,得方程: $Y = 199.2 + 8.2 \times 10^4 X$, $r = 0.9998$,线性范围为0.0867~1.0835 μg。

2.5 精密度试验 对照品溶液连续进样6次,每次10.00 μl,峰面积RSD=0.7%。

2.6 重复性试验 取同一批号样品6份,按供试品溶液制备方法制备,依法测定,结果2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷平均含量为0.0798 mg/g, RSD=1.0%,表明本法重复性好。

2.7 稳定性试验 取一样品溶液在0、2、4、8、10、12、14 h 分别进样,记录色谱峰面积,结果2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积RSD=1.7%,表明样品溶液在14 h 内稳定。

2.8 加样回收试验 取已知含量的样品9份,分别加入2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品相当于样品含量的80%、100%、120%各3份,照样品测定方法测定,计算回收率。结果平均回收率为99.2%, RSD=1.1%,见表1。

2.9 样品测定 取批号为1077332、1077335、1077341的样品,按“2.2”项下方法制备样品溶液,依上述色谱条件测定含量,结果3批样品中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量分别为:0.0798 mg/g, RSD=1.2%;0.0772 mg/g, RSD=0.8%;0.0786 mg/g, RSD=1.3%。

3 讨论

3.1 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷为水溶性物质,曾采用稀乙醇、50%甲醇、水等加热回流30 min和超声处理(功率300 W,频率40 kHz)

30 min^[3,4],水提取出水溶性成分多在色谱条件中难于分离,且易损坏色谱柱,最终选择50%甲醇超声30 min,从加样回收率试验结果看,此方法能提取完全,且杂质少干扰小。

3.2 对照品和供试品制备全过程都需避光操作,否则测含量偏低。

【参考文献】

- [1] 李 铮,傅欣彤,张小茜,等.养血安神丸质量标准研究[J].中国中医药信息杂志.2009,16(7):48.
- [2] 中国药典2010年版.一部[S].2010:249.
- [3] 封玉英,何世新,封海霞,等.高效液相色谱法测定养血安神片的含量[J].中国药业.2007,16(9):16.
- [4] 中国药典2010年版一部[S].2010:947.

[收稿日期]2012-07-11

[修回日期]2012-12-10