

HPLC 测定安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

胡永水, 牛伟霞, 张 淹*, 海 娟, 李士栋

山东东阿阿胶股份有限公司 国家胶类中药工程技术研究中心, 山东 聊城 252201

摘要: 目的 建立安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 (C₂₀H₂₂O₉) 的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱 (HPLC) 法, 以 Dionex Acclaim 120[®] C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 为分离柱, 以乙腈-1%甲酸溶液 (23:77) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 320 nm, 柱温 25 °C。结果 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷在 0.010~0.200 μg 呈现良好的线性关系 ($r=0.999\ 6$), 平均回收率为 97.35%, RSD 为 2.07%。结论 该方法准确可靠, 适用于安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量测定。

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

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)03-0266-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.03.018

Determination of 2, 3, 5, 4'- tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Anermian Capsule by HPLC

HU Yong-shui, NIU Wei-xia, ZHANG Yan, HAI Juan, LI Shi-dong

Shandong Dong-E E-Jiao Co., Ltd., National Engineering Technology Research Center of Rubber Medicine, Liaocheng 252201, China

Abstract: Objective To establish the method for the content determination of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Anermian Capsule by HPLC. **Methods** The chromatographic condition was Dionex Acclaim 120[®] C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), mobile phase was acetonitrile-water (containing 1% formic acid) (23:77), flow rate was 1.0 mL/min, detective wavelength was 320 nm, and column temperature was 25 °C. **Results** 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside had a good linear relationship in the range of 0.010—0.200 μg ($r = 0.999\ 6$), and the mean recovery rate was 97.35% (RSD = 2.07%). **Conclusion** The method is accurate and reliable for determination of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Anermian Capsule.

Key words: Anermian Capsule; 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; HPLC

安尔眠胶囊是对《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂)第9册77页(W53-B-1740-94)收录的安尔眠糖浆进行剂型改进而开发的胶囊剂产品。由首乌藤、丹参和大枣等中药材制备而成,具有安神功效,临床用于治疗神经衰弱和失眠。方中君药丹参的含量测定方法已有文献报道^[1],但其臣药首乌藤有养心安神、祛风通络之功效。其化学成分有蒽醌类和二苯乙烯苷类等,蒽醌类成分有大黄素、大黄素甲醚等,二苯乙烯苷类成分有 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷等。其中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷为热敏性成分之一^[2],因此建立安尔眠产品中 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,对

于提高产品质量标准和有效控制制剂生产过程具有实际意义,同时可作为文献方法的补充控制方法之一,可有效的对组方中的君药和臣药进行全面控制。

1 材料

Dionex Ultimate3000 高效液相色谱仪, UltiMate3000 系列光电二极管阵列检测器(美国 Dionex 公司); Sartorius CPA224S 型电子分析天平(万分之一); Sartorius LE225D 型电子分析天平(十万分之一)。

2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(C₂₀H₂₂O₉)对照品(批号 110844-200908,供含量测定用),由中国食品药品检定研究院提供;安尔眠

收稿日期: 2013-11-21

作者简介: 胡永水, 质量部副部长, 从事质量管理工作。

*通信作者 张 淹, 主管中药师, 从事中药新药研究。Tel: 0635-3261191 E-mail: zhangyan3261967@126.com

胶囊样品由山东东阿阿胶股份有限公司自制(批号120517、120715、120716);乙醇、乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Dionex Acclaim 120[®] C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);检测波长 320 nm;流动相为乙腈-1%甲酸溶液(23:77);进样量 10 μL;柱温 25 °C;体积流量 1.0 mL/min。

2.2 测定溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 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,精密称定,加稀乙醇制成 100 μg/mL 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取安尔眠胶囊内容物,研匀,精密称取 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,取出,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,静止,用 0.45 μm 滤膜滤过。取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 按供试品的处方和制法,制成不含首乌藤的阴性样品,按 2.2.2 供试品溶液的制备方法制得阴性对照品溶液,即得。

2.3 标准曲线及线性关系考察

精密吸取上述已经配置好的 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mL 分别至 10 mL 量瓶中,加稀乙醇至刻度,制得浓度为 1、5、10、15、20 μg/mL 标准溶液,分别吸取 10 μL 注入色谱仪,按照 2.1 的色谱条件测定,以峰面积积分为纵坐标,以对照品溶液进样量为横坐标,进行回归分析,计算得回归方程为 $Y=0.665X+0.1287$ ($r=0.9996$),表明对照品在 0.010~0.200 μg 有良好的线性关系。

2.4 精密度试验

分别取同一 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,连续 5 次,测定峰面积,计算对照品的 RSD 值为 1.84%,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

分别取同一供试品溶液在 0~24 h 内进样 6 次(0、1、2、5、10、24 h),每次 10 μL,测定峰面积的 RSD 值为 0.35%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取同一批样品 5 份(批号为 120517),按 2.2.2

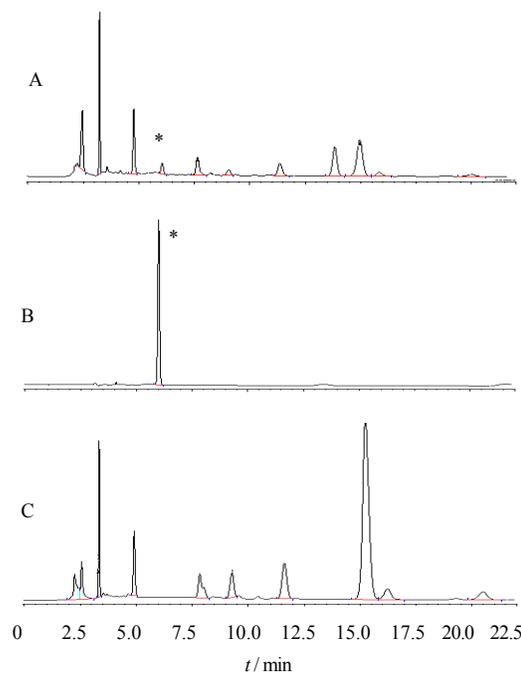
项下方法制得样品溶液,精密吸取供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,按 2.1 项下的色谱条件分析,测得每粒胶囊的平均含量为 0.26 mg (0.3 g/粒),RSD 值为 3.24%,表明重复性良好。

2.7 加样回收率

精密称取已知含量的样品 5 份(批号 120517),分别精密加入质量浓度为 0.21 mg/mL 的 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 1.0 mL 后,按 2.2.2 方法制的样品溶液,精密吸取供试品溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,按 2.1 项下色谱条件分析,计算回收率,结果平均回收率为 97.35%,RSD 值为 2.07%。

2.8 专属性试验

精密量取适量阴性对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,结果供试品分离度良好,缺首乌藤阴性对照品溶液在与 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对应位置上未见相同色谱峰,表明阴性对照无干扰。见图 1。



*-2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

*-2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside

图3 安尔眠胶囊供试品(A)、2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品(B)及缺首乌藤阴性样品(C) HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC of Anerlian Capsule (A), 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside reference (B), and negative sample (C)

2.9 样品测定

按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定 3 批中试样品中安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -*D*-葡萄糖苷的含量, 结果见表 1。

表 1 安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -*D*-葡萄糖苷的量 ($n=2$)

Table 1 Content of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- β -*D*-glucoside in Anermian Capsule ($n=2$)

批号	2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷/ (mg·粒 ⁻¹)
120517	0.26
120715	0.27
120716	0.24

3 讨论

本试验用 HPLC 法测定安尔眠胶囊中 2, 3, 5, 4'-

四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -*D*-葡萄糖苷含量时曾试验了多种流动相系统, 结果表明以乙腈-1%甲酸溶液 (23:77) 系统的色谱峰对称性好, 在供试品中所测组分分离度好, 且没有杂质干扰, 所测结果重复性、精密度较好, 具有灵敏、准确、快速的特点, 作为该产品的质量控制在有效的确保药物的临床疗效。以乙腈-1%甲酸溶液(23:77)的流动相系统, 这与文献[1]中丹参成分丹酚酸 B 测定方法的一致, 但能否将这两种成分的含量测定利用同一系统同时测定, 目前正在进行实验阶段, 需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 梁 妍, 田维熙, 马晓丰. 首乌藤的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(7): 536-538.
- [2] 刘振丽, 宋志前. 不同地区制何首乌中二苯乙烯苷含量测定及稳定性考察 [J]. 中成药, 2002, 24(9): 684-685.