

# RP-HPLC法测定珍珠露水草提取物中蜕皮激素的含量

惠玉虎,张立,李健\*

(西安天诚医药生物工程有限公司,陕西 西安 710075)

珍珠露水草提取物是从鸭跖草科植物珍珠露水草 *Cyanotis arachnoides* C. B. Clarke 全草中提取的主要活性物质,国内主要用于促使桑蚕龄期缩短,上簇整齐,促进吐丝结茧,国外用于化妆品中防皱。蜕皮激素的测定用紫外分光光度法,误差较大。因此本实验建立了蜕皮激素含量的 RP-HPLC 测定方法。

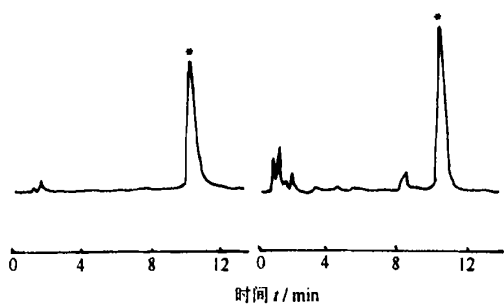
## 1 仪器与试剂

美国 Waters 600型高效液相色谱仪, Waters 486型紫外检测器,北京精瑞计算机技术公司色谱工作站 (GS2101型), KQ-250型超声波清洗器。

蜕皮激素对照品由 Sigma 公司提供,珍珠露水草提取物为西安天诚医药生物工程有限公司生产,水为二次重蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Zorbax SB C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (15: 85), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 242 nm, 灵敏度: 0.01 AUFS, 柱温: 25℃。在上述色谱条件下,蜕皮激素与杂质完全分离,见图 1。



\* -蜕皮激素

图 1 蜕皮激素对照品 (A) 和珍珠露水草提取物 (B) 的 HPLC 图谱

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取蜕皮激素对照品 5.00 mg, 于 25 mL 容量瓶中, 加 95% 乙醇溶解, 定容至刻度, 即得对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取珍珠露水草提取

物样品适量于 25 mL 容量瓶中, 加入 95% 乙醇约 20 mL, 超声振荡 30 min, 静置至室温, 定容。用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

2.4 线性关系: 分别精密吸取蜕皮激素对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μL, 在上述色谱条件下进样, 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 线性回归方程为  $Y = 13.759X - 0.589X$ ,  $r = 0.9999$ 。由结果表明: 蜕皮激素在 0.298~1.488 μg 范围内具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取蜕皮激素对照品溶液分别连续进样 5 次, 每次进样 10 μL, 测定峰面积,  $RSD$  为 1.73% ( $n = 5$ )。

2.6 重复性试验: 精密称取珍珠露水草提取物适量, 按供试品处理方法测定 5 份, 结果平均含量为 25.38%,  $RSD$  为 0.69%。

2.7 稳定性试验: 精密吸取蜕皮激素对照品溶液, 每隔 1 h 进样测定, 进样量 10 μL, 结果表明对照品溶液 5 h 内基本稳定,  $RSD$  为 0.81%。

2.8 回收率: 精密称取已知含量的珍珠露水草提取物, 添加一定量的蜕皮激素对照品溶液, 按供试品处理方法测定, 蜕皮激素平均回收率为 99.3%,  $RSD$  为 0.91% ( $n = 4$ )。

2.9 样品测定: 精密称取珍珠露水草提取物 10 批, 按供试品处理方法测定, 结果平均含量为 25.32%,  $RSD$  为 0.66%。

## 3 讨论

检测波长的选择: 蜕皮激素对照品溶液在 190~700 nm 波长范围内, 最大吸收波长为 242 nm, 故本实验选择 242 nm 作为检测波长。

流动相比比例的确定: 在上述色谱条件下, 本实验选择了不同比例的流动相: 甲醇-水 (30: 70)、(25: 75)、(40: 60) 和乙腈-水 (20: 80)、(15: 85) 进行试验, 结果乙腈-水 (15: 85) 分离效果最好。

该方法简便易行, 准确可靠, 可以作为珍珠露水草提取物中蜕皮激素含量测定的方法。