

## RP-HPLC法测定血脂宁口服液中二苯乙烯苷的含量

刘云<sup>1,2</sup>, 张兰桐<sup>1</sup>, 张永泉<sup>2</sup>, 袁志芳<sup>1</sup>, 王春英<sup>1</sup>, 刘晓丽<sup>2\*</sup>

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2. 石家庄市药品检验所, 河北 石家庄 050051)

制何首乌为防老抗衰、防治动脉粥样硬化等症的常用中药, 复方制剂血脂宁口服液由制何首乌、荷叶、山楂等 6 味中药组成, 具有滋补肝肾、活血化痰、调节血脂的功能, 适用于高血脂症的康复治疗, 对头晕、肢麻、胸闷有较好的改善作用。据文献报道<sup>[1]</sup>, 何首乌中的有效成分为二苯乙烯苷, 是抗衰老、降血脂药理药效的活性成分, 且含量较高。本实验采用 RP-HPLC 法对制剂中二苯乙烯苷进行了定量测定, 建立了该制剂的含量测定方法, 并考察了不同产地的何首乌对其制剂质量的影响, 为制剂的质量控制提供理论依据。

### 1 仪器和试剂

美国 SSI 高效液相色谱仪, SSI500 型紫外检测器, Anstar 色谱工作站。

乙腈、甲醇为色谱纯, 乙醇等为分析纯, 水为去离子水。血脂宁口服液(自制)何首乌 *Radix Polygoni Multiflori* 购自河北安国、广西、浙江等地, 经河北医科大学药学院聂凤麟教授鉴定。2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(简称二苯乙烯苷)对照品(中国药品生物制品检定所提供)。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-甲醇-水 (15: 10: 75); 流速: 1.5 mL/min; 检测波长: 320 nm; 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取二苯乙烯苷对照品适量, 加稀乙醇制成 0.16 mg/mL 的二苯乙烯苷溶液; 精密量取此溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密量取供试品 5 mL 置分液漏斗中, 加水饱和的正丁醇振摇提取 4 次 (15, 10, 10, 10 mL), 合并提取液, 减压蒸干, 残渣加稀乙醇溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过。精密量取续滤液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 作为

供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备: 取缺制何首乌的其他各味中药按处方工艺制成阴性对照品, 按 2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

2.5 测定方法: 分别精密吸取上述 3 种溶液各 10 μL, 注入色谱仪, 在上述色谱条件下测定, 二苯乙烯苷色谱峰的保留时间为 11.913 min, 色谱图见图 1。

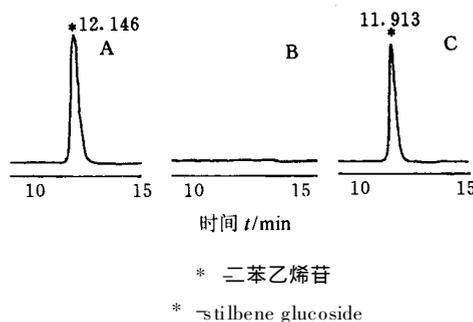


图 1 对照品 (A)、阴性对照 (B) 及样品 (C) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substance (A), negative control (B) and sample (C)

### 2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察: 精密称取二苯乙烯苷对照品适量, 加稀乙醇制成 0.202 4 mg/mL 的二苯乙烯苷贮备液, 进一步稀释至 0.025 3 mg/mL 的溶液。分别吸取此溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 μL, 注入色谱仪, 测定峰面积值, 以进样量为横坐标, 以峰面积值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为:  $Y = -3.389 \times 10^3 + 1.3 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明: 二苯乙烯苷在 0.0253~0.5060 μg 线性关系良好。

2.6.2 最低检测限: 在信噪比  $S/N = 3$  时, 最低检测限为 3.0 ng。

2.6.3 精密度考察: 取同一供试品, 连续进样 5 次, 每次 10 μL, 二苯乙烯苷含量的 RSD 值为 0.8%。

2.6.4 重现性考察: 取同批样品 5 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 平均含量为 0.781 9 mg/mL, RSD 值为 2.0% ( $n = 5$ )。

\* 收稿日期: 2002-06-27

作者简介: 刘云, 河北安国人, 主管药师, 医学硕士, 1993 年毕业于河北大学生物化学专业, 1993 年至 1996 年工作于石家庄市血液制品所, 2001 年获河北医科大学药物分析专业硕士学位, 现工作于石家庄市药品检验所, 从事中药新产品的研究与开发工作。

2.6.5 稳定性考察:取供试品溶液分别放置 0, 1, 3, 5, 7, 12 h,精密进样 10 $\mu$ L,按上述色谱条件测定峰面积, *RSD* 为 0.64%,表明样品在 12 h内稳定。

2.6.6 回收率试验:精密量取本品(浓度为 0.7819 mg/mL)4, 4, 5, 6, 6 mL置 10 mL量瓶中,分别加入对照品 4.78, 4.80, 3.94, 3.12, 3.14 mg,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,按 2.3项下方法操作,分别注入液相色谱仪,测定峰面积,平均回收率为 98.30%, *RSD* 为 0.47%。

2.6.7 阴性对照品溶液考察:取阴性对照品溶液进样测定,色谱图中在二苯乙烯苷色谱峰相应的保留时间处无色谱峰干扰,可排除制剂中其他成分干扰。

2.7 样品含量测定:取 3批样品,依法操作,测定峰面积,计算样品含量。结果见表 1。

表 1 血脂宁口服液中二苯乙烯苷的测定结果

Table 1 Results of stilbene glucoside in Xuezhining Liquor

批号	二苯乙烯苷 / (mg $\cdot$ mL $^{-1}$ )
1	0.7819
2	0.7067
3	0.6115

2.8 不同产地何首乌制得的血脂宁口服液的含量测定:由不同产地的何首乌,制成 10批不同批号的制剂,依法测定了 10批制剂的含量,结果见表 2。

表 2 不同产地何首乌制剂中二苯乙烯苷含量测定结果

Table 2 Results of stilbene glucoside in Xuezhining Liquor made by different *Radix Polygoni Multiflori*

批号	二苯乙烯苷 / (mg $\cdot$ mL $^{-1}$ )
1	0.7819
2	0.7067
3	0.6115
4	0.3770
5	0.2055
6	0.1487
7	0.3345
8	0.2313
9	0.1084
10	0.0206

### 3 讨论

3.1 据文献报道<sup>[2]</sup>,二苯乙烯苷色谱峰的光谱吸收曲线在 (320 $\pm$ 1) nm 有最大吸收;本实验曾用紫外-可见分光光度法对二苯乙烯苷对照品溶液在 200-420 nm 波长进行扫描测定,最大吸收波长在 320 nm 处,因此选择 320 nm 为检测波长。

3.2 关于提取溶剂,试验中选用醋酸乙酯和水饱和正丁醇作为提取溶剂。在研究中发现醋酸乙酯提取不完全,高效液相色谱法测定显示的结果重现性较差。水饱和正丁醇则能对制剂中二苯乙烯苷有效提取,薄层色谱法不再显示亮蓝色斑点,高效液相色谱法测定结果也很稳定,故选用水饱和正丁醇作为提取溶剂。

3.3 关于色谱条件,据文献报道<sup>[2,3]</sup>,并先后试验了 25%、30%、35%、40% 甲醇,以及 20%、25%、30% 乙腈等,以及不同比例的乙腈-甲醇-水系统。结果表明,流动相为乙腈-甲醇-水 (15:10:75),流速为 1.5 mL/min 时,二苯乙烯苷色谱峰达到了满意分离,理论塔板数为 4486,分离度为 5.63,拖尾因子为 1.29,因此将此色谱条件定为制剂含量测定的最佳条件。

3.4 据文献报道<sup>[2]</sup>,二苯乙烯苷对光不稳定,因此,对血脂宁口服液含量测定时,宜在避光条件下进行,并使用棕色器皿;供试品、对照品溶液应在临用前配制,以减小误差。

3.5 对 10批不同产地何首乌制成的制剂含量测定结果表明,制剂中二苯乙烯苷的含量差异较大,为了控制制剂的质量,在生产中应严格控制其药材来源,以保证制剂的质量及临床疗效。

### References

- [1] Deng W L, Gong S R. Progress in studies on *Radix Polygoni Multiflori* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1987, 18 (3): 42.
- [2] Lu J, Dong H R, Li M S. Determination of stilbene glucoside content in *Radix Polygoni Multiflori* and *Radix Polygoni Multiflori Preparata* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(2): 104-105.
- [3] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I .

### 通 知

为了便于国际交流,本刊决定从 2003年第 1期起,文内的图题、表题、图注、表注及文后的参考文献一律用中、英文两种文字表示。请投稿时按以上要求撰写。

《中草药》杂志编辑部