

SPE-HPLC法测定首乌补肾酒中二苯乙烯苷的含量

叶曼红¹, 温梅云^{2*}

(1. 广东省化工制药职业技术学院, 广东 广州 510520; 2. 广东省结核病防治研究所, 广东 广州 510630)

首乌补肾酒是以纯正德庆出产的何首乌为主要原料, 并配以多种国产珍贵滋补药材, 采用新法提制而成, 具有滋养补血、乌发驻颜、健脾和胃、强肾壮身的功能。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)是何首乌的主要成分。本实验采用固相萃取(SPE)前处理并进行测定, 结果表明该方法简便、高效、准确、专属性强、重复性好、结果可靠, 并且能够净化中药样品, 避免待测成分损失和保护色谱柱^[1, 2]。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器; AC-120G BP2110D 电子天平; Waters 公司 Sep-Pak C₁₈ 微柱。

甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 二苯乙烯苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0844-200003); 首乌补肾酒(广东省德庆县首乌酒厂, 批号: 20011001, 20011101, 20011201)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性: 色谱柱: Hypersil ODS(2) 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(32:68); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 320 nm^[3]; 柱温: 35℃; 进样量: 10 μL。在上述色谱条件下, 二苯乙烯苷理论塔板数为 8 200, 保留时间为 9.0 min, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 取二苯乙烯苷对照品约 20 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液(0.2 mg/mL)。精密移取储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 精密吸取首乌补肾酒 3 mL, 置 20 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心。溶液流过 Sep-Pak C₁₈ 微柱, 收集流出液, 每 2 mL 收集 1 份, 共收集 9 份, 将每份溶液各进样 10 μL, 记录色谱图, 结果发现前 7 份含量依次递增, 第 7 份流出液开始趋于平衡, 即溶液中二苯乙烯苷的浓度达到饱和, 为了确保含量测定的准确性, 取第

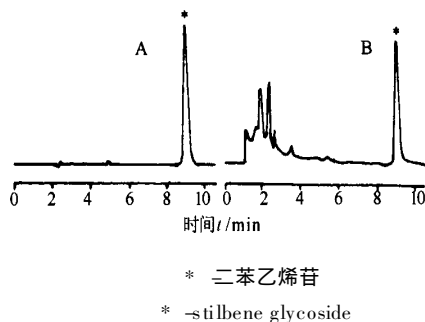


图 1 二苯乙烯苷对照品(A)和首乌补肾酒(B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of stilbene glucoside reference substance (A) and Shouwu Bushen Tinctura (B)

8 份溶液进行测定, 即第 15~16 mL 溶液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备: 精密吸取对照品储备液(0.2 mg/mL) 1, 5, 4, 5, 10, 15 mL, 分别置 25, 50, 25, 25, 25, 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 各进样 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积。以二苯乙烯苷浓度作为横坐标, 峰面积作为纵坐标, 得线性回归方程: $Y = -3.628 \times 10^4 + 3.218 \times 10^7 X$, $r = 0.9999$ 。表明二苯乙烯苷在 0.008 16~0.122 40 mg/mL 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 取二苯乙烯苷对照品溶液(40.80 μg/mL), 重复进样 6 次, 测定二苯乙烯苷峰面积值, 结果其 RSD 为 0.2% ($n=6$)。

2.6 稳定性试验: 取同一份供试品溶液(批号: 020710) 分别于 0, 1, 24, 25, 28, 48 h 各进样 10 μL, 记录色谱图, 测定二苯乙烯苷峰面积值, 结果其 RSD 为 0.5% ($n=6$)。供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批供试品(批号: 20011101), 分别平行称取 6 份, 照 2.3 项下方法测定二苯乙烯苷峰面积, 结果其 RSD 为 0.8% ($n=6$)。

2.8 回收率试验: 采用加样回收法。精密吸取同一批已知二苯乙烯苷含量(0.282 mg/mL)的首乌补肾酒(批号: 20011101) 3 mL, 分别加 0.204 mg/mL 二苯乙烯苷对照品溶液 3, 4, 5 mL, 按上述色谱条件

测定,计算回收率,结果平均回收率为 99.81%,RSD为 1.3 ($n=6$)

2.9 样品测定:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件进样测定,计算二苯乙烯苷含量,结果见表 1

表 1 首乌补肾酒中二苯乙烯苷的含量 ($n=3$)

Table 1 Stilbene glycoside in Shouwu Bushen Tinctura ($n=3$)		
批号	二苯乙烯苷 /($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD /%
020701	0.282	0.7
020702	0.269	1.2
020703	0.290	0.4

3 讨论

3.1 提取溶剂选择:试验用流动相 甲醇 50% 甲醇分别稀释至刻度,离心,取上清液,过滤膜 (0.45 μ m),取续滤液,进样 10 μ L,记录色谱图,结果含量基本一致 根据取溶剂与流动相接近为佳,并且考虑

到流出曲线的饱和时间,因此选择 50% 甲醇为提取溶剂。

3.2 提取条件选择^[3]:试验用 50% 甲醇直接稀释至刻度,超声提取 10, 20, 30, 45 min,结果发现测得含量基本一致 考虑到试验操作越简单越好,因此选择直接稀释提取。

3.3 试验采用 DAD检测器进行峰纯度检测,纯度达到 99.7%,所以未做阴性对照试验。

References

[1] Zhu B H, Liang Y Y. Determination of icaritin in Haima Bai Pill by HPLC combined with solid-phase extraction of Sep-Pak C18 cartridges [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药) 1999, 21 (10): 500.
[2] Li J F, Zhu B H, Fang J H, et al. Effect of Shenkang Injection on proliferation and fibronectin secretion of glomerular endothelial cells [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2001, 12(4): 287.
[3] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol II .

HPLC法测定川芎及天芎注射液中阿魏酸的含量

黄东萍¹,文东旭²,林文翰^{3*}

(1. 广西大学化学化工学院,广西 南宁 530004; 2. 广西药品检验所,广西 南宁 530021;
3. 北京大学 天然药物及仿生药物国家重点实验室,北京 100083)

天芎注射液由川芎、天麻两味中药组成,用于偏头疼、老年痴呆、头风眩晕、目系眩急、身体拘倦等症。方中川芎的主要成分为阿魏酸 现代药理研究表明,阿魏酸有抑制血小板聚集、降低血小板活性和改善微循环的作用,是天芎注射液中的有效成分之一。因此,本实验选择阿魏酸作为定量指标,采用 RP-HPLC法测定川芎及天芎注射液中阿魏酸的含量,方法快速、方便、专属

1 仪器与试药

Waters 600E泵, Waters PDA996检测器, Waters 717自动进样器, Waters Miliennium³²色谱工作站。川芎,四川产,鉴定为川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎;天芎注射液由广东彼迪药业有限责任公司提供,阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: Inertsil ODS-3 (250 mm $\times$

4.6 mm, 5 μ m) (日本 GL Sciences Inc.);流动相: 甲醇-5% 醋酸溶液 (35: 65);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 320 nm

2.2 川芎药材供试品溶液的制备:取本品粉末约 0.2 g (同时另取本品粉末按《中华人民共和国药典》2000年版一部附录 IX H 第一法测定水分),精密称定,置量瓶中,精密加 30% 乙醇 10 mL,称定质量,静置 24 h,振摇后再超声处理 20 min,再称定质量,用 30% 乙醇补足减失的质量,摇匀,静置 取上清液离心,即得。

2.3 天芎注射液供试品溶液的制备:精密量取天芎注射液 30 mL,加水饱和正丁醇提取 6次,每次 20 mL,合并正丁醇液,减压蒸干,残渣加温热的甲醇-5% 醋酸溶液 (1: 4)溶解,转移至 10 mL 量瓶中,放冷,加甲醇-5% 醋酸溶液 (1: 4)至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备:取天麻干粉 0.3 g (相当于不含川芎的天芎注射液 100 mL),按天芎注射液制备方法制成阴性样品,再按上述方法制备阴性对

* 收稿日期: 2003-06-14