

反相高效液相色谱法测定复方参仲口服液中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的含量

莫可元,路玫 (广西壮族自治区人民医院药剂科,广西 南宁 530021)

摘要:目的 探索复方参仲口服液的质量控制方法。方法 采用反相高效液相色谱法测定复方参仲口服液中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的含量。结果 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷在 0.0456 ~ 0.2736 μ g 之间有良好的线性关系,回收率为 97.55%,RSD为 1.25%。结论 所建方法可用于复方参仲口服液的质量控制。

关键词:复方参仲口服液;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷;反相高效液相色谱法

中图分类号:R927.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)04-0316-03

Determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stibene-2-O- β -D-glycoside in Fufang Shenzhong oral solution by RP-HPLC

基金项目:广西壮族自治区科技攻关课题(编号:桂科攻 0161011)

作者简介:莫可元(1957-),男,广西人,副主任药师,研究方向:中药新药开发。电话:0771-2186166。E-mail: kymo@163.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the quality control of Fufangshenzhong oral solution. **METHODS** The contents of 2, 3, 5, 4' - tetrahydroxy-stibene-2-O-β-D-glycoside were determined with RP-HPLC. **RESULTS** 2, 3, 5, 4' - tetrahydroxy-stibene-2-O-β-D-glycoside contents were linear in the range of 0.0456μg-0.2736μg, the average recovery rate was 97.55%, RSD was 1.25%. **CONCLUSIONS** This method is applicable in the quality control of Fufangshenzhong oral solution.

KEY WORDS: Fufangshenzhong oral solution; 2, 3, 5, 4' - tetrahydroxy-stibene-2-O-β-D-glycoside; RP-HPLC

复方参仲口服液是根据中医验方及现代药效学理论而研制的新制剂,由何首乌、枸杞子、黄芪、丹参、淫羊藿、杜仲、独脚柑等 9 味药材组成。临床上主要用于防治原发性骨质疏松症。本实验旨在探索复方参仲口服液的质量控制方法,以确保制剂的安全有效。

1 仪器与材料

Waters-600E 型高效液相色谱仪, Waters-996 型 PDA 二极管阵列检测器, Waters-M32 色谱工作站 (美国); 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 0844 - 2001); 乙腈 (色谱纯, 中国医药集团上海化学试剂公司, 批号: 20021223); 醋酸乙酯 (分析纯, 中国医药集团上海化学试剂公司, 批号: 20021206); 复方参仲口服液 (自制)。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters Nova-Pak C₁₈ 柱 (300mm × 3.9mm, 4μm), 流动相: 乙腈-水 (25: 75), 柱温 30℃, 检测波长: 320nm, 流速: 0.7mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品 9.12mg, 置 100mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.0912mg · mL⁻¹ 的贮备液。

2.3 可行性试验

按处方量制备缺何首乌药材的阴性对照样品, 依样品测定项下方法操作, 测定 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷样品及阴性对照样品的色谱图。结果, 在上述色谱条件下样品中 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷与其他组分能达到基线分离, 理论塔板数按 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷计达到 4659。见图 1。

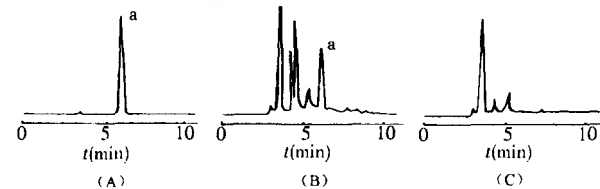


图 1 复方参仲口服液高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of standard substance (A), sample (B) and blank sample (C)

a: 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷色谱峰

a: 2, 3, 5, 4' - tetrahydroxy-stibene-2-O-β-D-glycoside

2.4 标准曲线

精密吸取上述贮备液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mL 至 10mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 依次进样 10μL, 测定峰面积, 将所得峰面积与 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的量求回归方程, 得回归方程为 $Y = 7.91 \times 10^6 X - 8.53 \times 10^3$ ($r = 0.9991$)。结果表明 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷进样量在 0.0456 ~ 0.2736μg 内线性关系良好。

2.5 精密度试验

按上述色谱条件, 精密吸取浓度为 0.0912mg · mL⁻¹ 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, 重复进样 6 次, 每次 10μL, 结果 RSD% 为 1.02% ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验

依法制备供试品溶液 (批号 030122), 从 0 ~ 5h 内每隔 1h 进样 10μL, 测定峰面积积分值, 计算 RSD = 2.59% ($n = 6$)。表明样品溶液至少在 5h 内稳定。

2.7 重复性试验

同批供试品 (批号 030122) 连续取样 5 份, 依样品测定项下所述方法测定, 以外标一点法计算含量。结果表明, 方法重现性良好, RSD = 2.62% ($n = 5$)。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的供试品 (批号 030122) 20mL, 共 5 份, 分别精密加入 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液 (浓度为 0.0912mg · mL⁻¹) 1.0mL, 依法测定含量。计算, 平均加样回收率为 97.55%, RSD = 1.25% ($n = 5$)。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test ($n = 5$)

原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值	RSD (%)
0.0950	0.0912	0.1810	97.22	97.55	1.25
0.0950	0.0912	0.1804	96.89		
0.0950	0.0912	0.1848	99.25		
0.0950	0.0912	0.1830	98.28		
0.0950	0.0912	0.1790	96.13		

2.9 样品测定

精密吸取供试品 20mL 置分液漏斗中, 依次用醋酸乙酯振荡提取 4 次, 每次均为 20mL, 合并醋酸乙酯提取液, 置 80℃ 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10mL, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液用于含量测定。分别取 2, 3, 5, 4' - 四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对

照品溶液及上述处理好的供试品溶液,各进样 $10\mu\text{L}$,以外标一点法测定,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Result of sample determination($n=3$)

样品批号	含量 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	RSD(%)
021105	3.68	1.42
030122	4.75	1.55
030811	3.92	1.02

3 讨论

3.1 何首乌能滋补肝肾、益精血、强筋骨,为本方中君药,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷为何首乌中主要有效成分,因此,本实验参照有关文献^[1],采用醋酸乙酯作为提取溶剂,能很好地避免该口服液中其他成分的干扰,样品

测定结果重现性好,准确度高。

3.2 本实验还对同一批样品进行了 4,5,6 次提取,结果证明萃取次数超过 4 次后对含量测定结果无显著影响,故选定提取次数为 4 次。

3.3 采用反相高效液相色谱法测定复方参仲口服液中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的含量,被测组分的分离较好,方法操作简便,灵敏度高,结果准确,可作为该口服液实际生产中质量控制的标准。

参考文献

- [1] 蒋琴,鞠建明,鲁静.养血生发胶囊中何首乌羟芪衍生物的含量测定[J].时珍国医国药,2001,12(9):786.

收稿日期:2004-02-11