

HPLC测定参术儿康糖浆中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量

商量¹, 章春宇², 李红岩³, 商慧娟⁴, 王威^{3*} (1. 吉林省肿瘤医院, 长春 130012; 2. 长春医学高等专科学校, 长春 130051; 3. 吉林省中医中药研究院, 长春 130021; 4. 吉林省药品检验所, 长春 130062)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定参术儿康糖浆中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量。方法 采用 Techsphere C₁₈ 色谱柱; 流动相为乙腈-水 (16: 84); 检测波长为 320 nm; 柱温为 40 ℃。结果 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷进样量在 0.044 96 ~ 0.224 80 μg 内与峰面积积分值呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$); 平均加样回收率为 100.25% ($RSD=0.69\%, n=5$)。结论 方法简便、准确, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷; 参术儿康糖浆; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.792; R917.101 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)05-0436-03

Determination of 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shenzhu Erkang Syrup by HPLC

SHANG Liang¹, ZHANG Chun-yu², LI Hong-yan³, SHANG Hui-juan⁴, WANG Wei^{3*} (1. Jilin Province Tumor Hospital, Changchun 130012, China; 2. Changchun Medical College, Changchun 130051, China; 3. Jilin Province Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun 130021, China; 4. Jilin Province Institute for Drug Control, Changchun 130062, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shenzhu Erkang syrup. **METHODS** The Techsphere C₁₈ column was used as the stationary phase with the mobile phase of acetonitrile-water (16: 84). The detection wavelength was 320 nm and the column temperature was 40 ℃. **RESULTS** The linear range of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside was 0.044 96 ~ 0.224 80 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 100.25% with the RSD of 0.69% ($n=5$). **CONCLUSION** The method is convenient and accurate. It can be used for the quality control of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Shenzhu Erkang syrup.

KEY WORDS: 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; Shenzhu Erkang syrup; HPLC

参术儿康糖浆是由白术、炙黄芪、制何首乌、甘草等 15 味中药组成的复方制剂。具有健脾和胃、益气养血的功效,

作者简介: 商量, 男, 主管药师 * 通讯作者: 王威 Tel: (0431) 86816224 E-mail: w. w. wangwei@263. net

用于小儿疳积、脾胃虚弱、食欲不振、睡眠不安、多汗及营养不良性贫血。曾报道采用 HPLC 测定制剂中橙皮苷的含量^[1]。多羟基二苯乙烯化合物 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷是何首乌中主要的水溶性成分,具有调节血脂、抗氧化、提高学习记忆能力、保护神经细胞、保护血管上皮细胞等生物活性,中国药典(2005 年版)将其作为何首乌药材的质量控制指标^[2-5]。为了更好地控制制剂质量,本实验建立高效液相色谱法测定参术儿康糖浆中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量,为该制剂的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试药

日本岛津 LC-2010 高效液相色谱仪,日本岛津 2550UV 紫外分光光度计,德国赛多利斯 BP211D 分析天平。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品,批号:0844-200003,中国药品生物制品检定所提供。参术儿康糖浆,批号:20051210,20060411,20060412,吉林方大药业集团有限公司提供。D₁₀₁ 大孔吸附树脂,天津市海光化工有限公司,乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

图 1 Techsphere C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动

相:乙腈-水(16:84);检测波长:320 nm;柱温:40 ℃;流速:0.8 mL·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-葡萄糖苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 22.48 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

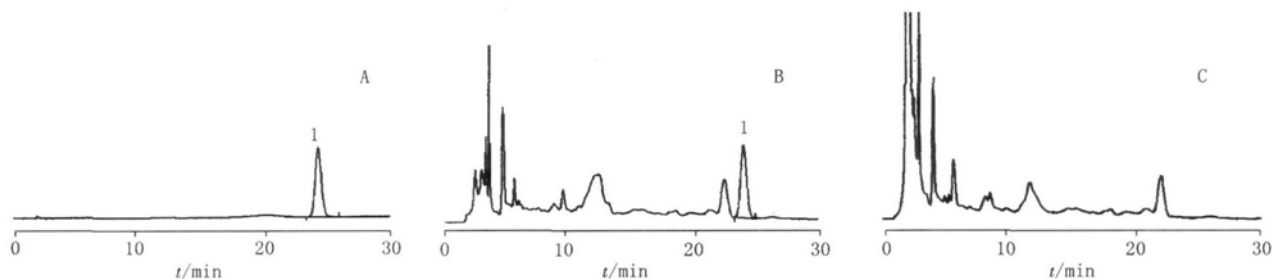
精密吸取参术儿康糖浆 5 mL,加于已处理好的 D₁₀₁ 大孔吸附树脂柱(湿法装柱,内径 1.5 cm,长 12 cm)上,用水 100 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用 70%乙醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加 70%乙醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加 70%乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方制法制备缺制何首乌药材的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.5 专属性试验

分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液 5 μL,按上述色谱条件进样,结果供试品色谱中,在与 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品色谱相同的保留时间处有色谱峰,与其他组分能基本达到基线分离, R > 1.5;阴性对照色谱中,在与 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品色谱峰相同的保留时间处无色谱峰,见图 1。



HPLC 色谱图

A - 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品; B - 参术儿康糖浆; C - 阴性对照; 1 - 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A - 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside reference substance; B - Shenzhu Erkang syrup; C - negative sample; 1 - 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside

2.6 线性关系考察

精密吸取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液 2,4,6,8,10 μL,分别按上述色谱条件进样,测定峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品进样量为横坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 4\,650\,580.5X - 6\,527.1$, $r = 0.999\,9$,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 0.044 96 ~ 0.224 80 μg 内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一参术儿康糖浆供试品溶液,分别在 0,8,12,19 h 按上述色谱条件进样 5 μL,测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积积分值,计算得其 RSD 为 1.07%,表明供试品溶液在 19 h 内基本稳定。

2.8 重复进样精密度试验

精密吸取同一参术儿康糖浆供试品溶液 5 μL,按上述色谱条件连续进样 5 次,测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰面积积分值,计算得其 RSD 为 1.41%。

2.9 重复性试验

取同一批号参术儿康糖浆 5 份,按样品测定方法进行测定,计算得 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的平均含量为 13.33 μg·mL⁻¹,RSD 为 0.93%。

2.10 回收率试验

取同一批号参术儿康糖浆(含 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷 13.33 μg·mL⁻¹) 5 份,每份 2.5 mL,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(32.68 μg·mL⁻¹) 1.0 mL,按样品测定方法进行测定,计算得 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的平均回收率为 100.25%,RSD 为 0.69%。

2.11 样品测定

取 3 个批号参术儿康糖浆,制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 5 μ L,按上述色谱条件进样测定,外标一点法计算 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 参术儿康糖浆中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷含量测定结果 ($n=3$)

Tab 1 Determination results of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside in Shenzhu Erkang syrup ($n=3$)

批 号	2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯 -2-O- β -D-葡萄糖苷含量 / μ g $\cdot$ mL $^{-1}$	RSD /%
20051210	13.24	1.38
20060411	20.73	0.96
20060412	20.91	1.25

3 讨论

3.1 测定波长的选择

取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷对照品甲醇溶液,在 200~400 nm 波长范围内进行扫描,结果在 320 nm 波长处有最大吸收,故选择 320 nm 作为 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的测定波长。

3.2 提取方法的选择

在制备供试品溶液的过程中,比较了有机溶剂提取和大孔吸附树脂柱前处理方法。精密吸取参术儿康糖浆 5 mL,加水 30 mL,用水饱和正丁醇振摇提取 4 次,每次 30 mL,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 50 mL,弃去氨试液洗液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为有机溶剂提取法供试品溶液。结果表明参术儿康糖浆采用 D_{101} 大孔吸附树脂柱处理后,与杂质峰分离度较好,能够准确测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙

烯-2-O- β -D-葡萄糖苷含量;采用有机溶剂提取而不经上柱处理则杂质峰较多,分离不好,重复性差。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷含量测定采用 D_{101} 大孔吸附树脂柱进行前处理的方法值得借鉴。

3.3 采用高效液相色谱法测定参术儿康糖浆中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷的含量方法可行,线性关系、稳定性、精密度、重复性、回收率试验良好,可作为的参术儿康糖浆质量控制方法。

REFERENCES

[1] QIU Y L, WAN L C, HUANG D, *et al.* Determination of hesperidin in Shenzhu Erkang syrup by HPLC [J]. Pract Clin Med(实用临床医学), 2005, 6(9): 21-22.

[2] GAO X, HU Y J, FU L C. Blood lipid-regulation of stilbene glycoside from Polygonum multiflorum [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007, 32(4): 323-326.

[3] CHU J, YE C F, LI L. Effects of stilbene-glycoside on learning and memory and inflammatory reaction of brain in dementia mice [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理), 2004, 15(4): 235-237.

[4] ZHANG L, LI L, LI Y L. Mechanism of the protection of stilbene glycoside which is the effective component of tuber fleeceflower root on nerve cells [J]. Chin J Clin Rehabil(中国临床康复), 2004, 8(1): 118-120.

[5] ZHANG L, RUI Y C, QIU Y, *et al.* Express of VEGF in endothelial cells and the effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2004, 39(6): 406-409.