

# HPLC 测定利胆合剂中白藜芦醇含量

宋静贤(湖州中心医院, 浙江 湖州 313000)

**摘要:**目的 建立 HPLC 测定利胆合剂中白藜芦醇含量的方法。方法 采用 HYPERSIL ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm); 乙腈-水(25:75)为流动相; 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 305 nm。结果 白藜芦醇在 8.2~164 μg·mL<sup>-1</sup> 内呈现良好的线性关系,  $r=0.9997$ , 重现性良好, 平均回收率为 87.02%, 88.31%, 90.67%。结论 本法检测快速, 定量准确, 可用于利胆合剂中白藜芦醇的含量测定。

**关键词:** 白藜芦醇; 利胆合剂; HPLC

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)13-1210-03

## Determination of Resveratrol in Longlianlidan Mixture by HPLC

SONG Jingxian(*Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China*)

---

作者简介: 宋静贤, 女, 药剂师 Tel: 13567989148 E-mail: sjx319008@126.com

· 1210 ·

Chin JMAP, 2010 July, Vol.27 No.13

中国现代应用药学 2010 年 7 月第 27 卷第 13 期

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for determination of resveratrol in Longlianlidan mixture. **METHODS** The determination of resveratrol in Longlianlidan mixture by HPLC was performed with HYPERSIL ODS C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 10 μm) and the mobile phase of acetonitrile-water(25 : 75) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was conducted at 305 nm and at room temperature. **RESULTS** The calibration curve was linear within the range of 8.2–164 μg·mL<sup>-1</sup> and the average recovery of resveratrol was 84.56%, 88.31%, 90.67%, respectively. **CONCLUSION** The HPLC method is precise, quick and suitable for determination of resveratrol in Longlianlidan mixture. **KEY WORDS:** resveratrol; Longlianlidan mixture; HPLC

白藜芦醇为多酚类物质,是一种植物抗毒素。其分布广泛,常见于葡萄科葡萄属植物、棕榈科海藻属植物、豆科的槐属、花生属、三叶草植物及虎杖、桑椹等。国内外研究证明,它具有诸多良好的药理活性和选择性,是一种天然的抗肿瘤、抗心血管疾病、抗突变、抗菌、抗炎、抗氧化、诱导细胞凋亡及雌激素调节物质<sup>[1]</sup>。我院龙连利胆合剂是由龙胆草、虎杖、连钱草等十多味中草药组成的自制制剂,主要用于治疗胆囊炎,胆结石,经临床长期使用,具有确切的疗效。其中君药虎杖中含白藜芦醇,而白藜芦醇具有抗菌消炎及对肝细胞的保护作用<sup>[2]</sup>,为龙连利胆合剂发挥临床疗效的主要药理活性成分之一。本试验采用 HPLC 对其进行含量测定,以提高质量标准,保证疗效。

## 1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(966 二极管阵列检测器, 515 泵, 7725i 进样阀, Millennium32 色谱管理系统); XW-80A 型旋涡混合器(上海医科大学仪器厂); LG10-2.4A 离心机(北京医用离心机厂); TG328B 光电分析天平(上海天平仪器厂)。白藜芦醇对照品(中国药品生物制品检定所,纯度>98%); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其他试剂为分析纯。龙连利胆合剂为自制(批号: 070109), 医院自制制剂许可证号: XZ20010406。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 HYPERSIL ODS 柱(大连衣利特科学仪器有限公司, 250 mm×4.6 mm, 10 μm); 流动相为乙腈-水(25 : 75); 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 305 nm<sup>[2-3]</sup>; 柱温为 25 °C。

**2.2.1 对照品溶液制备** 精密称取白藜芦醇对照品适量,用甲醇制成浓度为 164 μg·mL<sup>-1</sup> 的溶液。

**2.2.2 样品溶液制备** 精密吸取龙连利胆合剂溶液 1 mL, 置具塞试管中, 加入重蒸馏乙醚 5 mL, 涡旋 2 min, 3 800 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 取上清液, 重复用重蒸馏乙醚 5 mL 提取后, 合并上清液, 于

50 °C 水浴箱内蒸干, 用甲醇定容至 1 mL, 即得待测液。

**2.2.3 阴性对照溶液制备** 取缺虎杖的阴性空白样品, 同上法制得阴性对照溶液。

**2.2.4 专属性实验** 在上述条件下, 分别取样品溶液、阴性对照溶液、对照品溶液各进样 20 μL, 记录 HPLC 图谱, 见图 1, 保留时间为 10 min, 白藜芦醇在此条件下分离效果较好。

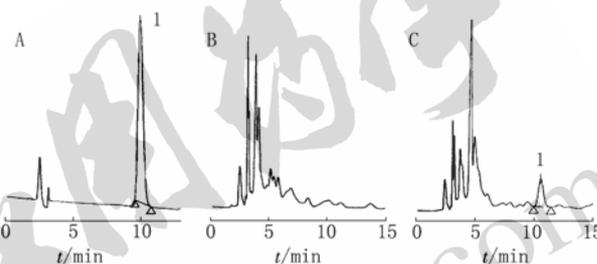


图 1 HPLC 图

A-标准品; B-空白; C-样品; 1-白藜芦醇

### 2.3 标准曲线

精密称取白藜芦醇对照品 4.10 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度线, 超声溶解, 即得 164 μg·mL<sup>-1</sup> 对照品溶液。取对照品溶液 5 份分别用甲醇稀释, 配置成 164, 82, 41, 20.5, 8.2 μg·mL<sup>-1</sup> 溶液, 取 20 μL 进样, 记录色谱峰面积, 以峰面积为纵坐标, 对照液浓度为横坐标进行回归, 得线性回归方程:  $Y=126\ 583X-36\ 760$ ,  $r=0.999\ 7$ 。

### 2.4 精密度试验

取对照品溶液(164 μg·mL<sup>-1</sup>)20 μL, 连续进样 5 次, 记录色谱峰面积。结果 RSD 为 0.62%(n=5), 表明仪器精密度良好。

### 2.5 加样回收试验

精密吸取阴性空白样品 1 mL 16 份, 各精密加入对照品溶液(164 μg·mL<sup>-1</sup>)100 μL(n=5), 250 μL(n=6), 600 μL(n=5), 用氮气吹干后, 按“2.2.2”项下方法制备待测液, 取 20 μL 进样, 记录峰面积, 代入线性方程计算白藜芦醇含量及回收率, 结果如表 1 所示。

表 1 加样回收试验数据

加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
16.40	13.95	85.06		
16.40	13.88	84.63		
16.40	14.50	88.41	87.02	3.05 (n=5)
16.40	14.92	90.98		
16.40	14.11	86.04		
41.00	35.19	85.83		
41.00	38.01	92.70		
41.00	41.28	100.67	88.31	3.36 (n=6)
41.00	35.66	86.97		
41.00	33.27	81.16		
41.00	33.85	82.56		
98.40	90.21	92.05		
98.40	88.64	90.45		
98.40	87.63	89.42	90.67	1.06 (n=5)
98.40	89.21	91.03		
98.40	88.58	90.39		

## 2.6 重复性试验

精密吸取同一批利胆合剂样品 1 mL 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备待测液, 取 20 μL 进样, 记录峰面积, 代入线性方程计算白藜芦醇含量, 结果 RSD 为 1.39%(n=6)。

## 2.7 样品测定

精密吸取利胆合剂样品 1 mL, 按“2.2.2”项下方法制备待测液, 取 20 μL 进样, 记录峰面积, 代入线性方程计算白藜芦醇含量, 结果如表 2 所示。

表 2 样品测定数据

样品批号	峰面积	含量/μg·mL <sup>-1</sup>
070109	4 073 991	32.47
070206	8 287 396	65.76
070508	5 368 210	42.70
070804	6 067 072	48.22
080105	6 751 886	53.63

## 3 讨论

龙连利胆合剂为混悬液, 其成分复杂, 采用微孔滤膜过滤后, 取滤液直接进样, 几乎检测不到白藜芦醇含量, 可能由于白藜芦醇难溶于水, 提取率比较低。分别对混合液、离心后残渣、滤液进行萃取浓集后进样, 都能检测到白藜芦醇含量, 且前两者明显大于后者。说明在该药物中白藜芦醇主要含量在混悬颗粒中。

文献报道萃取分离的试剂多用石油醚、氯仿、乙酸乙酯<sup>[5]</sup>, 郑可利<sup>[6]</sup>等采用正交实验法发现对虎杖中白藜芦醇的提取采用丙酮提取效率最好。但丙酮有一定毒性, 氯仿、乙酸乙酯常压下很难蒸馏, 本实验采用重蒸馏乙醚萃取, 能得到较好的提取效果。

对照品溶液中甲醇的带入可以改变样本的溶液极性, 对样本回收率有一定影响; 不同批号的样品由于原材料产地、采集时节不同, 对虎杖中白藜芦醇含量有较大影响; 服用前是否将液体混匀, 对药液中白藜芦醇含量有较大影响。

## 参考文献

- [1] 邵海燕, 于震宇, 陈杭君, 等. 白藜芦醇功能和作用机理研究进展 [J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 411-413.
- [2] 李燕, 戴佳锬, 祈杨, 等. 白藜芦醇的药理作用及其合成途径研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(11): 4844-4845.
- [3] 李萍, 周娟, 张蕾. HPLC 测定解毒降脂片中白藜芦醇含量 [J]. 中国药品标准, 2006, 7(2): 23-25.
- [4] 李锦焱, 刘晓羽. 高效液相色谱法测定烫伤合剂中白藜芦醇苷的含量[J]. 现代中医药, 2006, 26(1): 67-68.
- [5] 白杨, 潘隽丽, 苏微微. 白藜芦醇与白藜芦醇甙的研究进展 [J]. 中药材, 2004, 27(1): 55-59.
- [6] 郑可利, 郑小林. 正交实验法优选虎杖中白藜芦醇的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2008, 25(2): 176-178.

收稿日期: 2010-03-16