

# 高效液相色谱法测定龟甲养阴片中 四羟基二苯乙烯苷的含量

张 莉\*

(吉林省人民医院, 吉林 长春 130021)

**【摘要】** 目的:应用高效液相色谱法测定龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷的含量。方法:采用 Diamonsil(钻石) $C_{18}$ 柱(5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm);甲醇-水(38:62)为流动相;流速 1 mL/min;检测波长为 320 nm。结果:四羟基二苯乙烯苷线性范围为(0.071 6~0.358) $\mu\text{g}$ ,  $r=0.999 7$ ,回收率为 98.60%,RSD=0.99%。结论:该方法操作简便、准确、灵敏,可用于该制剂的质量控制。

**【关键词】** 高效液相色谱法;四羟基二苯乙烯苷;龟甲养阴片

**【中图分类号】** R284.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1005-9903(2008)04-0013-02

龟甲养阴片是由龟甲(制)、覆盆子等 26 味中药

组成的复方制剂。具有养阴软坚,滋补肝肾。用于动脉硬化,阴虚腰痛,胁痛,头晕耳鸣,五心烦热,冠心病等症。方中制何首乌具有补肝肾,益精血,强筋骨等多种功效,我们选择制何首乌中四羟基二苯乙烯苷含量作为本品含量测定的成分指标。本文采用

**【收稿日期】** 2007-08-10

**【通讯作者】** \* 张莉, Tel:13630595616; E-mail: jczhangwei@126.

com

8, 16, 24 h 进样测定,供试品栀子苷峰面积积分值的 RSD 为 0.17%,说明栀子苷至少在 24h 内稳定。

**2.10 重复性试验** 同一批号样品分别取样 5 份,照 2.2.2 项下方法操作,测定,计算含量。平均含量为 1.063 77( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),RSD 为 1.10%。

**2.11 回收率试验** 精密量取已知含量的样品,分别精密加入 0.8 倍、1 倍、1.2 倍量的栀子苷对照品,按供试品制备所述方法进行提取测定,计算回收率(见表 1)。结果表明平均回收率为 98.41%,RDS 为 0.43%。

表 1 栀子苷加样回收率结果

样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1.06377	0.850 1	1.877 7	98.11
	0.849 7	1.886 1	98.57
	0.852 1	1.871 0	97.66
	1.067 3	2.103 8	98.72
	1.059 4	2.082 8	98.10
	1.060 2	2.104 9	99.10
	1.280 1	2.304 3	98.30
	1.275 5	2.306 5	98.60
	1.277 2	2.296 5	98.10

**2.12 样品测定** 取样品 3 批,依法测定含量,结果分别为 1.074, 1.049, 1.064( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

## 3 讨论

茵黄口服液为复方制剂,成分复杂,采用 HPLC 不经分离,直接测定其中栀子苷的含量,方法简便快速,经精密度实验,认为结果可靠。

比较了多种流动相,认为乙腈-水(13:87)最佳,能排除干扰,使样品中的栀子苷分离度好,峰形尖锐不拖尾。

## 【参考文献】

- [1] 谢秀娟,郭洛宏,曹辰,等.茵黄口服液质量标准的研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(9):17-19.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2000.339-442.
- [3] 赵志军.肝炎净注射液质量标准的研究[J].中国现代应用药学杂志,2004,21(4):144-145.
- [4] 黄雪梅,蒙大平.RP-HPLC 测定龙胆泻肝口服液中栀子苷的含量[J].中成药,2001,23(7):489.
- [5] 李慧超,李敬伟,王艳萍等.RP-HPLC 测定蒙药洪林五味汤散中栀子苷的含量[J].中国药事,2003,17(5):302.

高效液相色谱法亦对龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷进行含量测定,以便更好地控制产品的质量,保证安全及疗效。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪;SPD-10A 紫外检测器;KO-250 型超声波处理器;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号:0844-200003,HPLC 面积归一化法,测定含量为 98.26%);龟甲养阴片(市售);甲醇为色谱纯,产于美国,其它试剂均为分析纯。

### 2 实验方法与结果

**2.1 色谱条件<sup>[1,2]</sup>** 色谱柱: Diamonsil(钻石) C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm × 250 mm), 流动相为甲醇-水(38:62), 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长: 320 nm; 理论塔板数按 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷峰计算应不低于 3 000, 柱温为室温。

**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 50% 乙醇制成每 1 mL 含 0.02 mg 的溶液, 做为对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 20 片, 研细, 取约 1.5 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25 mL, 称定重量, 回流提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 上清液滤过, 取续滤液, 做为供试品溶液。

**2.4 阴性对照溶液的制备** 按处方比例制备不含制何首乌药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。分别精密吸取阴性对照溶液、供试品溶液及对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪中, 按色谱条件测定, 结果表明, 阴性对照色谱图中, 与对照品相同保留时间处无干扰。

**2.5 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20 μL 分别注入高效液相色谱仪中进行分析, 以对照品进样量(μg)为横坐标, 以对照品的峰面积为纵坐标, 回归方程为:  $Y = 1.56 \times 10^6 X + 1.06 \times 10^4$ ,  $r = 0.9997$ , 结果表明四羟基二苯乙烯苷在 (0.071 6 ~ 0.358) μg 间呈良好的线性关系。

**2.6 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液连续 5 次重复进样, 测得相对偏差 RSD = 1.08%。

**2.7 稳定性试验** 在制得供试品溶液后 0, 2, 4, 6

h, 分别精密吸取供试品溶液 10 μL, 测定。结果四羟基二苯乙烯苷峰面积的 RSD = 1.25%, 表明在 6 h 内供试品溶液的四羟基二苯乙烯苷含量稳定。

**2.8 重复性试验** 取同一批样品, 按本文方法独立测定 5 次, 依法进样测定, 样品中四羟基二苯乙烯苷含量的 RSD = 1.12%, 结果表明其重复性良好。

**2.9 加样回收率试验** 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, 加入已测 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量的龟甲养阴片样品中, 精密加入 50% 乙醇 100 mL, 制得供试品溶液, 进样 5 μL, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 四羟基二苯乙烯苷加样回收率试验测定结果

样品取量 (g)	样品中含 量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)
5.203 6	2.288 5	2.09	4.354 2	98.84
5.036 8	2.215 2	2.17	4.384 7	99.98
5.046 2	2.219 3	2.13	4.291 2	97.27
5.018 5	2.207 1	2.11	4.281 0	98.29
5.254 9	2.311 1	2.07	4.352 3	98.61

$\bar{x} = 98.60\%, RSD = 0.99\%$

**2.10 样品测定** 按本文 2.2 与 2.3 项下分别制备对照品溶液和供试品溶液, 按上述色谱条件, 依法进样测定, 共测定 3 批样品, 结果分别为 0.132, 0.134, 0.124(mg/片,  $n = 2$ )。

### 3 讨论

在实验中过程中, 曾采用回流提取、超声处理两种制备供试品溶液方法, 并进行了测定分析, 结果表明, 回流提取比超声处理提取完全。

在试验中, 曾选用多种流动相进行试验, 甲醇-水(30:70)、甲醇-水(65:35)、甲醇-水(38:62)等; 最后选用正文所述的液相色谱条件, 可使供试品得到较好分离, 而被采用。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 123.

[2] 吕曙华, 王丽娟, 寿国香, 等. HPLC 法测定七宝美髯丸中四羟基二苯乙烯苷的含量[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(5): 357.

# 高效液相色谱法测定龟甲养阴片中四羟基二苯乙烯苷的含量



作者: 张莉  
作者单位: 吉林省人民医院, 吉林, 长春, 130021  
刊名: 中国实验方剂学杂志 **ISTIC PKU**  
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF EXPERIMENTAL TRADITIONAL MEDICAL FORMULAE  
年, 卷(期): 2008, 14(4)  
被引用次数: 2次

## 参考文献(2条)

1. 吕曙华, 王丽娟, 寿国香 HPLC法测定七宝美髯丸中四羟基二苯乙烯苷的含量[期刊论文]-中国新药杂志 2003(05)
2. 国家药典委员会 中华人民共和国药典(一部) 2005

## 本文读者也读过(10条)

1. 姜大成, 王永生, 雷钧涛, 许艳梅 龟甲滋阴化学成分的初步研究[会议论文]-2001
2. 薄层扫描法测定龟甲中胆甾4, 6-二烯-3醇的含量[期刊论文]-医药导报2005, 24(11)
3. 刘振启, 刘杰 龟甲的鉴别与炮制工艺[期刊论文]-首都医药2011(3)
4. 吴雪, 蒋晖, 张树球, 朱晓莹, 孙虹, 黄涵, 谢燕, WU Xue, JIANG Hui, ZHANG Shu-qiu, ZHU Xiao-ying, SUN Hong, HUANG Han, XIE Yan 高效液相色谱法测定乌圆补血口服液二中苯乙烯苷含量分析[期刊论文]-现代中西医结合杂志 2006, 15(10)
5. 陈长洲, 孙冬梅, 周瑞玲, 程学仁, 范宋玲, 宁德山 超细粉碎对龟甲水溶性蛋白质溶出度及煎出率的影响[期刊论文]-中药新药与临床药理2004, 15(4)
6. 农训学 龟板胶加工方法[期刊论文]-农村新技术2010(8)
7. 兰志琼, 黄婷慧, 卢先明, 蒋桂华, 邹海奎 成都市龟甲药材的市场初步调查[期刊论文]-时珍国医国药2011, 22(4)
8. 楼步青, 张诚光, LOU Bu-qing, ZHANG Cheng-guang 龟甲的提取工艺筛选[期刊论文]-中医药导报2005, 11(12)
9. 冯伟红, 李曼玲 HPLC法测定补肾腰痛颗粒中二苯乙烯苷的含量[期刊论文]-中国实验方剂学杂志2004, 10(2)
10. 朱照祥 对《中国药典》2000年版一部收录的动物类药材性状特征探讨[期刊论文]-中国中药杂志2002, 27(11)

## 引证文献(2条)

1. 符翠莉, 郭炎荣 RP-HPLC同时测定润燥止痒胶囊中2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷和苦参碱的含量[期刊论文]-广西医科大学学报 2011(1)
2. 郭炎荣, 符翠莉 固相萃取-HPLC同时测定润燥止痒胶囊中苦参碱和二苯乙烯苷的含量[期刊论文]-中国实验方剂学杂志 2010(12)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zgsyfjxzz200804006.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgsyfjxzz200804006.aspx)