

## 药品检验·药品质量

## HPLC 法测定制首乌药材中羟芪衍生物的含量

刘云 张永泉<sup>1</sup> 张兰桐 张冬<sup>2</sup> (河北医科大学 石家庄市 050017; <sup>1</sup>石家庄市药品检验所; <sup>2</sup>河北省药品检验所)

**摘要** 采用高效液相色谱法测定制首乌药材中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量。Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (5μm, 4.6×250mm), 流动相: 乙腈-甲醇-水 (10:20:70), 流速: 1.5ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 320nm。结果 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷在 0.0253~0.3542μg 范围内线性关系良好; 平均回收率为 99.34%, RSD 为 0.49%。方法简便、快速, 灵敏度高。

**关键词** 高效液相色谱法 制首乌 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2003) 06-0369-02

### Determination of 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Radix Polygoni Multiflori Preparata by RP-HPLC

Liu Yun, Zhang Yongquan<sup>1</sup>, Zhang Lantong and Zhang Dong<sup>2</sup> (Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050017; <sup>1</sup>Institute for Drug Control of Shijiazhuang City; <sup>2</sup>Hebei Provincial Institute for Drug Control)

**ABSTRACT** An RP-HPLC method was established for the determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside in Radix Polygoni Multiflori Preparata. The column was Diamonsil C<sub>18</sub> (5μm, 4.6×250mm). The mobile phase was acetonitrile-methanol-water (10:20:70), and the flow rate was 1.5ml·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength is 320nm. The linearity was in the range of 0.0253~0.3542μg. The average recovery was 99.34% and RSD was 0.49%. The method was simple, precise and reproducible.

**KEY WORDS** RP-HPLC; 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; Radix Polygoni Multiflori Preparata.

何首乌为历代防老抗衰的常用中药, 有生首乌与制首乌之分, 制首乌温补不燥, 长期服用安全, 具有防老抗衰及防治动脉粥样硬化、高血压、糖尿病等中老年疾病的作用<sup>[1]</sup>。

据文献报道<sup>[2]</sup>, 首乌中的特征成分 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量较高, 且为抗衰老、降血脂药理药效的活性成分。作者参照《中国药典》2000 年版何首乌项下的有关内容, 对制首乌的含量测定方法进行了研究, 采用高效液相色谱法测定其所含有效成分 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量, 为制首乌的质量控制提供了理论依据。

#### 1 仪器与试药

仪器: 美国 SSI 高效液相色谱仪; SSI500 型紫外检测器, 万方数据 色谱数据处理软件。

试药: 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); 制首乌药材 10 批 (河北制药集团)。

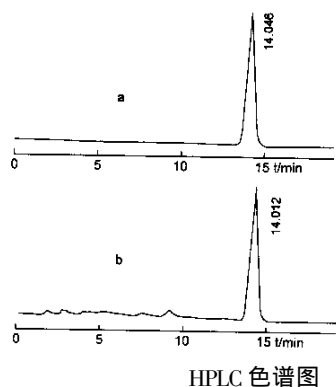
乙腈、甲醇为色谱纯, 乙醇等为分析纯, 水为去离子水。

#### 2 实验方法

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (5μm, 4.6×250mm), 流动相: 乙腈-甲醇-水 (10:20:70), 流速: 1.5ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 320nm; 进样量: 10μl。

**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, 加稀乙醇制成每 1ml 含 0.16mg 的溶液; 精密量取上液 2ml, 置 10ml 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末(过四号筛) 0.16g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 25ml, 称定重量, 加热回流 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 上清液用微孔滤膜(0.45 $\mu$ m) 滤过; 精密量取续滤液 2ml, 置 10ml 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液各 10 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 色谱图见图。



a. 对照品溶液; b. 制首乌药材

**2.4 线性关系及标准曲线** 精密称取对照品适量, 加稀乙醇溶解并稀释制成 0.1012mg·ml<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 并稀释至 0.0253mg·ml<sup>-1</sup> 作为对照品溶液。取 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 $\mu$ l 进样, 以上述色谱条件测定峰面积值, 以进样量( $\mu$ g) 为横坐标(X), 以峰面积值为纵坐标(Y) 进行线性回归, 其回归方程为:  $Y = -3.389 \times 10^3 + 1.33 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷在 0.0253~0.3542 $\mu$ g 范围内, 线性关系良好。

**2.5 最低检出限** 在信噪比 S/N=3 时, 最低检测限为 3.0ng。

**2.6 样品重复性考察** 取同一批号样品 5 份, 按“2.3”项下的内容制备供试品溶液, 并按上述色谱条件测定含量, 平均含量为 3.44%, RSD 为 2.03%。

**2.7 稳定性试验** 取供试品溶液分别放置 0, 1, 3, 5, 7, 12 小时, 精密进样 10 $\mu$ l, 按上述色谱条件测定峰面积, RSD 为 1.34%, 表明供试品在 12 小时内稳定。

**2.8 加样回收率测定** 取已测定含量的同一样品 3 份, 每一份平行称取 3 次, 分别加入对照品溶液(1.6654mg/ml) 照“2.3”项下依法测定, 见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

样品中的 苷量(mg)	加入对照 品量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
2.2133		5.51	98.98		
2.2178	3.3308	5.54	99.74		
2.2229		5.53	99.29		
2.7661		5.44	100.35		
2.7651	2.6646	5.40	98.88	99.34	0.49
2.7596		5.41	99.47		
3.3045		5.52	99.28		
3.3072	2.2316	5.51	98.71		
3.3113		5.53	99.42		

**2.9 样品含量测定** 采用上述方法, 对 10 批不同产地来源的制首乌药材中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量进行了测定, 结果见表 2。

表 2 10 批不同产地制首乌含量测定结果

产地	河南	广西	四川灌县	湖南	河南信阳
含量(%)	3.44	0.06	0.14	2.56	0.18
产地	广西玉林	四川	浙江	广东	广西
含量(%)	1.67	1.51	0.72	0.49	0.04

### 3 讨论

**3.1 系统适用性试验** 采用文中方法, 理论塔板数  $N > 2000$ , 拖尾因子  $T = 1.2$ 。检测过程中系统稳定。

**3.2 流动相系统** 曾试验了 25%、30%、35%、40% 甲醇; 15%、20%、25%、30% 乙腈等系统, 发现色谱峰分离不好, 有拖尾现象。后又尝试不同比例的乙腈-甲醇-水系统, 如 10:20:70, 15:10:75, 25:10:65 等等, 结果以乙醇-甲醇-水:10:20:70 系统, 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷色谱峰达到满意分离。

**3.3 药材前处理** 据文献报导<sup>[3,4]</sup>, 生首乌药材粉碎, 过四号筛样品测定结果均匀性良好, 建议制首乌药材粉碎后过四号筛再取样。

**3.4 对照品的配制** 据文献报道<sup>[3,4]</sup>, 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对光不稳定, 建议对照品溶液应临用前配制, 以减小试验误差。

### 参考文献

- 1 邓文龙, 龚世蓉. 何首乌研究进展. 中草药, 1987, 18(3): 42
- 2 李建北, 林茂. 何首乌化学成分的研究. 中草药, 1993, 24(3): 115
- 3 鲁静, 等. 高效液相色谱法测定何首乌及制首乌中羟芪衍生物的含量. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 104
- 4 中国药典. 一部, 2000: 139

## HPLC法测定制首乌药材中羟芪衍生物的含量

作者: [刘云](#), [张永泉](#), [张兰桐](#), [张冬](#)  
作者单位: [刘云, 张兰桐\(河北医科大学, 石家庄市, 050017\)](#), [张永泉\(石家庄市药品检验所\)](#), [张冬\(河北省药品检验所\)](#)  
刊名: [中国药事](#)  
英文刊名: [CHINESE PHARMACEUTICAL AFFAIRS](#)  
年, 卷(期): 2003, 17 (6)  
被引用次数: 3次

### 参考文献(4条)

1. 《中华人民共和国药典》编辑委员会 [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2000
2. [鲁静](#) [高效液相色谱法测定何首乌及制首乌中羟芪衍生物的含量](#)[期刊论文]-[药物分析杂志](#) 2000(02)
3. [李建北](#); [林茂](#) [何首乌化学成分的研究](#) 1993(03)
4. [邓文龙](#); [龚世蓉](#) [何首乌研究进展](#) 1987(03)

### 引证文献(3条)

1. [吕春艳](#); [李芳](#); [张兰桐](#) [天然产物中二苯乙烯类化合物的研究近况与开发前景](#)[期刊论文]-[河北医科大学学报](#) 2009(2)
2. [钟颖](#) [天麻首乌胶囊的质量控制](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2006(8)
3. [章小萍](#); [李顺祥](#) [天麻首乌胶囊质量标准研究](#)[期刊论文]-[湖南中医杂志](#) 2006(2)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zhonggys200306020.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhonggys200306020.aspx)