

# HPLC 法测定首乌润肠片中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷的含量

林建昌<sup>1\*</sup>, 郭伟魁<sup>2</sup>(1.梅州市人民医院, 广东梅州 514031; 2.梅州市食品药品监督管理局, 广东梅州 514031)

中图分类号 R283.64;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)23-2159-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.23.19

**摘要** 目的:建立测定首乌润肠片中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Shimadzu VP-ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(25:75, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 320 nm。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 0.2~5.0 μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.9999$ );精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2%;平均加样回收率为 96.29%, RSD=2.12%( $n=6$ )。结论:该方法操作简便、结果准确、专属性强,可用于首乌润肠片的质量控制。

**关键词** 首乌润肠片;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of 2,3,5,4'-Tetrahydroxy Stilbene-2-O-β-d-Glucoside in Shouwu Runchang Tablets by HPLC

LIN Jian-chang<sup>1</sup>, WU Wei-kui<sup>2</sup>(1. Meizhou Municipal People's Hospital, Guangdong Meizhou 514031, China; 2. Meizhou Institute for Food and Drug Control, Guangdong Meizhou 514031, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O-β-d-glucoside in Shouwu runchang tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Shimadzu VP-ODS column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-water (25:75, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃, and detection wavelength was set at 320 nm. RESULTS: The linear range of 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O-β-d-glucoside were 0.2-5.0 μg( $r=0.9999$ ) with an average recovery of 96.29%(RSD=2.12%,  $n=6$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and specific, and can be used for quality control of Shouwu runchang tablets.

**KEYWORDS** Shouwu runchang tablets; 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O-β-d-glucoside; HPLC; Content determination

性和质量可控性有待提高,对其深入研究以提高质量标准,增加含量测定尤为重要,但首要的是选定合理的含量测定指标。过去往往是根据处方中所含药材中的已知成分来推测和确定制剂的含量测定指标,这仅从单味药材考虑,制剂中多味药材经过不同制备工艺,成分往往会发生变化,且更为复杂,故需要更科学、更简便的方法分析、鉴别制剂这一复杂体系中的主要成分。作为化合物鉴定和结构确证的重要工具,应用 LC-MS/MS 法对维吾尔药复杂成分进行分析,能够快速获得鉴定化合物的结构信息,及时识别已知化合物,有助于快速筛选出合适的含量测定指标,建立含量测定方法。将 LC-MS/MS 法应用于维吾尔药复杂体系主要成分鉴定中,可极大提高工作效率,结果更加真实可靠,并可同时获得多个成分的结构信息,可为进一步确认已知化合物和发现新化合物提供依据。

### 参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:维吾尔药分册[S]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1998:160.

- [2] 刘祥东,梁琼麟,罗国安,等.液质联用技术在医药领域中的应用[J].药物分析杂志,2005,25(1):110.
- [3] 阮伸.新橙皮苷结构的波谱分析[J].江苏化工,1994,22(3):36.
- [4] 林丽美,许招懂,闫积彪,等.夏枯草中活性成分迷迭香酸的提取分离、结构鉴定与富集[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(8):35.
- [5] 阿衣努尔·热合曼,麦路德木·麦麦吐逊,热西旦木·托乎提.香青兰化学成分分离纯化及结构鉴定[J].新疆医科大学学报,2011,34(4):366.
- [6] 古海锋,陈若芸,孙玉华,等.香青兰化学成分的研究[J].中国中药杂志,2004,29(3):232.
- [7] 吴霞,刘净,于志斌,等.薰衣草中黄酮类化学成分的研究[J].中国中药杂志,2007,32(9):821.
- [8] 黄幼霞,黄荣桂,郑兴中.迷迭香酸药理作用的研究进展[J].海峡药学,2010,22(5):17.
- [9] 李丽,梁绪国,刘锡强,等.迷迭香酸对冠脉结扎大鼠心肌缺血损伤的保护作用[J].中国医学创新,2009,6(22):18.

(收稿日期:2013-04-08 修回日期:2013-07-15)

\* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0753-2131938。  
E-mail:1599252661@qq.com

首乌润肠片源于梅州市人民医院的临床经验方,由何首乌、火麻仁、黄芪等十味中药组成,具有滋阴增液、益气通便的功效,临床多用于治疗大肠液亏或气虚便秘,疗效良好,需求较大。何首乌为全方君药,味苦、甘、涩,性微温,归肝、心、肾经,功能为解毒、消痈、截疟、润肠通便,主治疮痈、瘰疬、风疹瘙痒、久疟体虚、肠燥便秘<sup>[1]</sup>。首乌润肠片的现行质量标准为广东省食品药品监督管理局颁布的医疗机构制剂注册标准——粤ZB20111728(Z),仅有薄层色谱鉴别,尚无含量测定方法。因此,为更好地控制该制剂的质量,提高临床用药的安全性和有效性,笔者结合有关文献<sup>[2-7]</sup>,建立了其君药何首乌中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷的含量测定方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AB204-N型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);BP211D型电子天平(德国Sartorius公司);1100型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司);KQ-250DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

首乌润肠片(批号:20120911、20121108、20130314)及缺何首乌的阴性样品均由梅州市人民医院提供;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110844-200606);乙腈为色谱纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Shimadzu VP-ODS(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(25:75, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:320 nm;进样量:10 μl。

### 2.2 对照品溶液的制备

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,精密称定,加稀乙醇制成每1 ml含200 μg的溶液,滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 供试品溶液的制备

取首乌润肠片10片,除去糖衣,研细,取适量(约相当于何首乌药材0.2 g),精密称定,置25 ml量瓶中,精密加入稀乙醇20 ml,超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.4 阴性对照溶液的制备

取缺何首乌的阴性样品适量,按“2.3”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

### 2.5 专属性试验

精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10 μl,注入HPLC仪,记录色谱图。结果显示,阴性对照色谱在与对照品色谱相应位置处无干扰峰出现,表明处方中其他成分对测定结果无影响。色谱见图1。

### 2.6 线性关系考察

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10.01 mg,置20 ml量瓶中,用稀乙醇溶解并稀释至刻度,

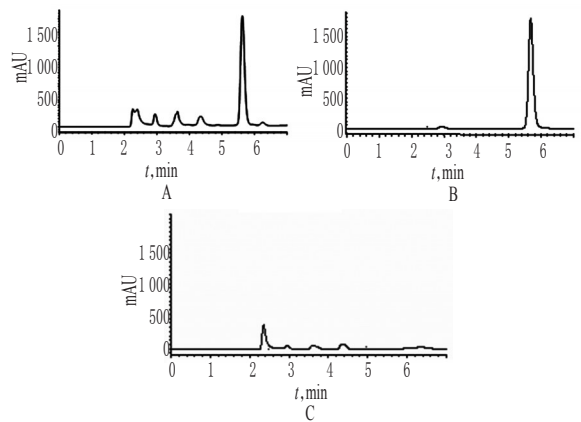


图1 高效液相色谱图

A. 供试品; B. 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷对照品; C. 阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms

A. test sample; B. 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O-β-d-glucoside control; C. negative control

摇匀,即得对照品贮备液。精密量取该贮备液适量,用稀乙醇稀释制成质量浓度分别为20、40、100、200、300、500 μg/ml的系列溶液,分别进样10 μl,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以对照品进样量(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=3\ 051.0x+146.3$ ( $r=0.999\ 9$ ,  $n=6$ )。结果显示,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷的进样量在0.2~5.0 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.7 精密度试验

精密吸取对照品溶液(200 μg/ml)10 μl,按上述色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,RSD=0.4%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.8 稳定性试验

取同一份供试品溶液,分别于0、1、2、4、6、12、24 h进样10 μl,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果显示,RSD=1.4%( $n=7$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.9 重复性试验

取同一批样品(批号:20130314)适量,共6份,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,样品中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5.110 6 mg/片,RSD=1.2%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.10 加样回收率试验

取已知含量的同一批样品(批号:20130314)约0.25 g,共6份,精密称定,置25 ml量瓶中,分别加入对照品溶液(1 mg/ml)5 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

### 2.11 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品含量。结果显示,3批样品(批号:20120911、20121108、

20130314)中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷的含量分别为5.101 5、5.103 7、5.110 6 mg/片。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
5.121 6	5.052 3	10.013 8	96.83		
5.110 1	5.052 3	9.803 3	92.89		
5.109 8	5.052 3	9.995 7	96.71	96.29	2.12
5.107 6	5.052 3	9.921 7	95.28		
5.110 2	5.052 3	10.111 5	98.99		
5.105 4	5.052 3	10.009 4	97.06		

### 3 讨论

#### 3.1 测定指标的选择

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,与灵芝、人参、冬虫夏草并称为祖国草药中的“四大仙草”<sup>[8]</sup>。何首乌是首乌润肠片处方中的君药,其主要成分为二苯乙烯苷和结合蒽醌等。现行《中国药典》载有何首乌药材中二苯乙烯苷、大黄素和大黄素甲醚的含量测定方法,规定何首乌按干燥品计算,含2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷(C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>)不得少于1.0%;含结合蒽醌以大黄素(C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)和大黄素甲醚(C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>)的总量计,不得少于0.10%。考虑到处方药味较多,且结合蒽醌含量较低,结合前期试验,笔者最终选择以2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-d-葡萄糖苷为含量测定指标。

#### 3.2 供试品提取溶剂的选择

笔者在前期试验采用甲醇、乙醇、稀乙醇和20%乙醇作为提取溶剂提取样品,测定样品含量。结果显示,用稀乙醇作提取溶剂的效果优于甲醇、乙醇和20%乙醇<sup>[9]</sup>,故选择稀乙醇作为供试品的提取溶剂。

#### 3.3 供试品提取方法的选择

2010年版《中国药典》(一部)何首乌含量测定项下采用加热回流的方法提取样品,但笔者经试验发现采用超声处理的方法所得结果与加热回流法基本一致,因此选用更为简便的超声提取方法<sup>[10]</sup>。

综上所述,本方法操作简便、结果准确、专属性强,可用于首乌润肠片的质量控制。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社,2010:164.
- [2] 潘林梅,徐小燕.HPLC法测定制首乌及降脂通脉片中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量[J]. 中成药,2003,25(12):974.
- [3] 廖海民,王玲丽,谭玲玲,等.不同产地何首乌中二苯乙烯苷的测定[J]. 中草药,2006,37(4):603.
- [4] 尹宁宁,林林.HPLC测定杜羌通络酒中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷的含量[J]. 中国中药杂志,2008,33(24):28.
- [5] 李海燕,宋汉敏,李振国.培元通脑胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):129.
- [6] 吕丽爽.何首乌中二苯乙烯苷的研究进展[J]. 食品科学,2007,27(10):608.
- [7] 刘敏华.高效液相色谱法测定升血调元汤中二苯乙烯苷的含量[J]. 医药导报,2010,29(12):1 636.
- [8] 李奇,王伽伯,肖小河,等.何首乌不同提取物清除羟自由基的活性研究[J]. 中国药房,2013,24(19):1 760.
- [9] 王志梅,丘桂贤,陈繁华.巴戟补肾丸质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(1):52.
- [10] 杨宝,邬伟魁.夜交藤片质量标准研究[J]. 中国医药指南,2013,11(26):27.

(收稿日期:2013-12-24 修回日期:2014-03-19)

## 国家卫生和计划生育委员会副主任崔丽赴沪出席“每个妇女、每个儿童”活动

本刊讯 2014年5月22日,国家卫生计生委副主任崔丽赴沪出席“每个妇女、每个儿童”相关活动。“每个妇女、每个儿童”倡议是联合国秘书长潘基文于2010年9月在联合国千年发展目标首脑会议上发起的全球性行动,旨在调动和加强全球行动,改善世界各地妇女儿童健康。

崔丽陪同潘基文参观了新成立的上海市妇幼保健中心,与正在进行健康体检活动和康复训练的儿童、家长及医务人员互动交流,听取上海市妇幼保健工作情况介绍,并出席该中心揭牌仪式。

在出席由联合国、国家卫生计生委、中国人民对外友好协会共同主办的“每个妇女、每个儿童”午餐会时,崔丽表示,中国政府支持联合国倡导的妇幼健康战略,积极推进联合国千年发展目标妇幼健康领域指标的加快实现。中国的主要妇幼健康指标已位于发展中国家前列,与发达国家差距进一步缩

小,婴儿死亡率和5岁以下儿童死亡率已提前实现联合国千年发展目标。2014年是《中华人民共和国母婴保健法》颁布20周年,国家卫生计生委将在全国开展以“共圆妇幼健康梦”为主题的“妇幼健康服务年”系列活动,促进妇幼健康服务跃上新台阶。崔丽指出,下一步中国政府将更加关注西部不发达地区妇女儿童的健康问题,继续积极参与国际合作,尤其是在南南框架下与广大非洲国家、国际组织携手合作,为全球妇女儿童的健康福祉作出贡献。

潘基文赞赏中国在保障妇女儿童健康权益、提供均等化服务方面取得的成绩,充分肯定中国在“每个妇女、每个儿童”全球行动中发挥的积极作用,呼吁政府和社会关注并以实际行动保护妇女儿童健康,希望中国在推动全球妇幼健康工作中继续发挥重要作用。