

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol II .
 [2] Xie Y S, Li H B, Song B S. Application research of natural

clarifying agents on decoctions of complex prescription of TCM [J]. J Pharm Pract (药学实践杂志), 1998, 16(2): 87-88.

淫羊藿提取物中淫羊藿苷含量的 HPLC测定

王旭东¹, 姚晨², 鲁方平^{1*}

(1. 成都康弘制药有限公司, 四川 成都 610041; 2. 石家庄科迪药业有限公司, 河北 石家庄 050091)

淫羊藿药材为《中华人民共和国药典》2000年版收载品种, 淫羊藿苷为其中有效成分。为了控制其质量, 本实验建立了 HPLC法测定淫羊藿提取物中淫羊藿苷的含量, 并在方法学考察过程中, 对文献^[1-6]报道的多种色谱条件进行了比较, 建立了合适的测定方法。

1 仪器与试剂

Waters (2690-996) 高效液相色谱仪, Sartorius BP211D 型电子天平, CQ-250 超声波清洗仪。淫羊藿提取物 (浸膏粉) 为本公司自制。淫羊藿苷对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号: 0737-200111)。乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (28: 72); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μL。理论塔板数以淫羊藿苷计算应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品 20.94 mg, 用甲醇溶解定容至 100 mL, 作为贮备液 (209.4 μg/mL)。分别精密吸取此贮备液, 加甲醇稀释配制成浓度为 8.376, 16.75, 41.88, 83.76, 167.5, 209.4 μg/mL 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 50 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇 30 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 再加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。按上述色谱条件测定, 绘制淫羊藿苷对照品和供试品的色谱图。在供试品色谱图中, 与对照品色谱图中相同保留时间处有色谱峰 (图 1)。

2.4 标准曲线与线性范围: 取上述各对照品溶液

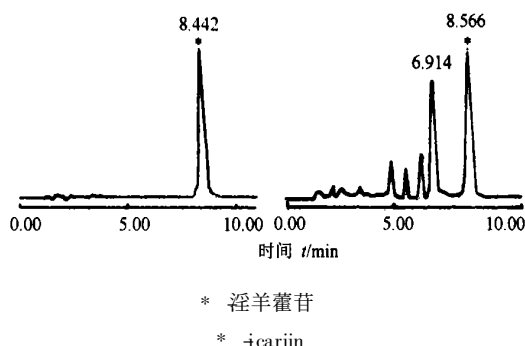


图 1 淫羊藿苷 (A) 和淫羊藿提取物 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of icaritin (A) and Herba Epimedii extraction (B)

10 μL 依次进样, 每一浓度进样两次, 记录色谱图。以峰面积平均值为纵坐标, 进样量为横坐标绘制标准曲线, 结果表明淫羊藿苷进样量在 0.083 8~2.094 0 μg 与峰面积线性关系良好, 回归方程为 $Y = 2.283512X - 36.382$, $r = 0.9999$ 。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一对照品溶液 (104.7 μg/mL) 10 μL, 重复进样 6 次, 测定淫羊藿苷的峰面积值, 结果 $RSD = 0.20\%$ 。

2.6 重现性试验: 取同一批样品 (011001) 6 份, 分别按供试品溶液制备法制备, 测定其淫羊藿苷峰面积, 计算, 样品中淫羊藿苷平均含量为 128.2 mg/g, RSD 为 0.83%。

2.7 加样回收率试验: 取已知含量 128.2 mg/g 的样品共 9 份, 每份 30 mg, 精密称定, 分为 3 个梯度, 分别精密加入淫羊藿苷对照品溶液 (390.6 μg/mL) 各 2.5, 5, 10 mL, 配制成加样供试品溶液。按供试品溶液制备方法制备, 测定含量, 计算, 结果加样回收率为 98.46%, $RSD = 1.78\%$ ($n = 9$)。

2.8 样品测定: 取 3 批提取物, 按上述供试品溶液制备方法及色谱条件进行测定, 以外标法计算含量,

* 收稿日期: 2002-11-29

作者简介: 王旭东 (1969-), 男, 四川三台县人, 分析工程师, 主要从事药品研发与质量标准研究工作。Tel (028) 85831474-196

结果见表 1

表 1 淫羊藿提取物中淫羊藿苷含量 (n= 3)

Table 1 Content of icariin in *Herba Epimedii* extraction (n= 3)

批号	淫羊藿含量 / (mg° g ⁻¹)	RSD %
010411	135. 5	0. 52
010613	131. 3	0. 23
011022	128. 2	0. 89

3 讨论

本实验进行流动相选择时,曾试验了条件I 乙腈-水 (28∶ 72),II 甲醇-水 (60∶ 40),III 甲醇-乙腈-水 (45∶ 10∶ 45)和IV 甲醇-水-冰醋酸 (60∶ 40∶ 0. 5) 4种流动相体系。经比较发现,流动相I 条件下样品中的淫羊藿苷主峰与杂质峰分离度最佳,且与其他条件下色谱图有较大差异。相同供试液分别在前述 4种条件下测定,最终提取物中淫羊藿苷的含量出入甚大 (含量分别为 128. 2, 219. 0, 220. 4, 224. 6 mg /g)。从图谱和计算的结果来看,参考文献^[7]所述,条件II ,III ,IV测定结果偏高的原因推测

为未能将 epimedin C与淫羊藿苷有效分离,故计算值实际为两者的总和;而条件I 则有效分离,所测值为淫羊藿苷单体含量。因此,在作淫羊藿苷测定时,应注意流动相体系的选择,以求获得准确结果。

References

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. VolI .
[2] Zhang Y, Xiao C H, Zhong G Y, *et al.* Determination of icariin in *Epimedium* in Sichuan province by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(5): 265-266.
[3] He S Z, Guo B L. Quality research of *Epimedium* L. in Guizhou province [J]. *Chin J Drug Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(5): 291-294.
[4] Shi W Z, Zhu L, Xu D S, *et al.* Determination of icariin in Migu Capsule by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(5): 341-342.
[5] Wang Y P, Guo B L. Quantitative analysis of total flavonoids and icariin in Xianling Gubao Capsule [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(10): 741-742.
[6] Wang Y J, Meng X X, Li Q, *et al.* Determination of icariin in Yangchun Yuye by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(11): 664-665.
[7] Wang M Z, Chen Y H, Xiang Y, *et al.* *Analysis of Common Chinese Herbal Medicine by HPLC* (常用中草药高效液相色谱分析) [M]. Beijing: Science Press, 1999.

导数光谱法测定疏风定痛丸中土的宁的含量

张云哲,李云霞*

(承德中药集团有限责任公司,河北 承德 067000)

疏风定痛丸是由马钱子、麻黄、乳香、没药、千年健、自然铜、杜仲等 15味中药制成的复方蜜丸制剂^[1]。具有祛风散湿、活血止痛的功效。由于君药马钱子中含有毒性较大的土的宁,因此《中华人民共和国药典》规定了土的宁的含量范围。疏风定痛丸中土的宁的分析测定方法很多,药典采用了高效液相色谱法代替以前一直沿用的薄层-比色法,然而在实际应用中,该方法存在着提取过程烦琐等缺点。本实验针对上述问题采用导数光谱法直接测定样品中的土的宁含量,结果较为满意。

1 仪器、药品与试剂

岛津 UV-2401型紫外分光光度计;土的宁对照品由中国药品生物制品检定所提供;疏风定痛丸样品由本公司生产;不含马钱子的疏风定痛丸阴性样品由乳香、没药、杜仲等 14味中药按《中华人民共和国药典》规定粉碎、混合、加蜜制成丸;正己烷、二氯甲烷、无水甲醇为色谱纯,其余均为分析纯。

2 方法与结果

2. 1 供试液的制备^[2]: 取疏风定痛丸样品和硅藻土 (2∶ 1)研匀的粉末 3份,每份 5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入氯仿 20 mL和浓氨水 0. 3 mL,摇匀,放置过夜。滤过,精密吸取滤液 10 mL,置分液漏斗中,用 0. 5 mol /L硫酸液振摇萃取 4次,每次 10 mL,将酸水层滤入 50 mL容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀。再精密吸取稀释液 10 mL,置 50 mL容量瓶中,加 0. 5 mol /L硫酸液至刻度,摇匀,得供试液。
2. 2 土的宁对照液的配制: 精密称取土的宁对照品适量,置 100 mL容量瓶中,用 0. 5 mol /L硫酸液溶解,制成 0. 182 mg /mL的对照液。
2. 3 不含马钱子粉的疏风定痛丸阴性液的配制: 取不含马钱子粉的药丸和硅藻土 (2∶ 1)的研匀粉末 5 g,置具塞锥形瓶中,按 2. 1项下方法制成阴性液。
2. 4 测定波长的选择^[2]: 将不含马钱子的疏风定痛丸阴性液、疏风定痛供试液分别进行紫外光谱测定,结

* 收稿日期: 2003-01-01