

淫羊藿降压有效部位中活性成分淫羊藿甙含量的 RP-HPLC 分析[△]

中国药科大学天然药物化学教研室(南京 210009) 孔令义*
南京师范大学理化实验中心 李 意

摘 要 建立了淫羊藿 *Epimedium grandiflorum* 降压有效部位中降压活性成分淫羊藿甙(icariin)含量的 RP-HPLC 分析方法。并对由不同产地的淫羊藿药材制备的淫羊藿降压有效部位中淫羊藿甙的含量进行了分析。这为淫羊藿降压有效部位质量标准的制定奠定了基础。

关键词 淫羊藿 降压有效部位 淫羊藿甙

淫羊藿 *Epimedium grandiflorum* 为小檗科植物,其茎叶为我国常用中药,具有补肾阳,强筋骨,祛风湿的功效^[1]。现代药理学研究表明,淫羊藿具有多方面的生物活性,对内分泌系统,心血管系统和蛋白质合成及核酸代谢的作用最为显著,尤其是淫羊藿及其有效成分淫羊藿甙的心血管方面活性,近年越来越得到了中医药学的肯定和重视^[2]。我们对淫羊藿降压有效部位进行了制备研究,研究出了淫羊藿降压有效部位的制备工艺。对不同产地的淫羊藿药材用同样工艺制备了有效部位,建立了用 RP-HPLC 方法分析淫羊藿降压有效部位中活性成分淫羊藿甙含量的方法,并用该方法进一步分析了不同产地药材制备的有效部位中淫羊藿甙的含量。

1 实验材料

1.1 仪器与色谱条件:日本 Shimadzu LC-6A 高效液相色谱仪;SPD-6AV 紫外可见分光光度检测器;C-R3A 数据处理系统;色谱

柱 Shimadzu CLC-ODS(5 μ m,150mm $\times$ 6mm ID);流动相:甲醇-0.5%冰乙酸水溶液(58:42),流速 1.2 mL/min;柱温 40 $^{\circ}$ C。

1.2 试剂,对照品及样品:甲醇(HPLC 级);双蒸去离子水;冰乙酸(分析纯);淫羊藿甙(icariin)对照品为作者从淫羊藿中分离得到,并经各种理化常数和波谱数据鉴定^[3];样品由各地原料药材经同一制备工艺制得。

2 方法

2.1 检出限:按信噪比 3:1 计,测得淫羊藿中淫羊藿甙的检出限为 $1.059 \times 10^{-3} \mu\text{g}$ 。

2.2 柱效:以淫羊藿甙的色谱测得的理论塔板数为 1.05×10^5 。

2.3 标准曲线制备:精密称取淫羊藿甙对照品 20 mg,用甲醇 50 mL 溶解后配成标准贮备液,其浓度为 400 μL 。分别取不同量的标准贮备液配制淫羊藿甙的系列对照品溶液,各进样 1 μL ,由此得出淫羊藿甙在 0.04~0.40 μg 范围内峰面积与进样量(μg)的回归

* Address: Kong Lingyi, Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing

孔令义,男,33岁,1992年7月沈阳药学院药物化学专业天然药物化学研究方向博士研究生毕业,获理学博士学位。1992年10月至1994年12月在中国药科大学药学博士后流动站做博士后研究,现任中国药科大学中药学院院长,天然药物化学教研室教授。先后对短梗五加、白花前胡、紫花前胡、麻疯树、大戟、一品红、淫羊藿等中药的化学成分进行了深入系统的研究,在国内外刊物发表学术论文30余篇。

李 意,女,27岁,1991年毕业于南京师范大学化学系,助理工程师,主要研究方向为中药有效成分的高效液相色谱分析,发表学术论文6篇。

[△]国家科委生命科学技术发展中心医药技术创新博士项目资助课题,部分内容在首届中国新医药博士论坛(1995-10,北京)作大会报告

方程为 $Y=21.989\times10^3+2.536\times10^3X$, $r=0.9999(n=5)$ 。

2.4 待测液的制备和含量测定:精密称取淫羊藿降压有效部位的干燥细粉 60 mg,用 10 mL 甲醇 60 ℃加热提取两次,每次 0.5 h,提取液过滤后定容于 50 mL 容量瓶中。将上述溶液经 0.20 μm 微孔滤膜过滤,即为供试液,进样 1 μL,按上述色谱条件进行分离测定,测得峰面积按外标法计算含量。

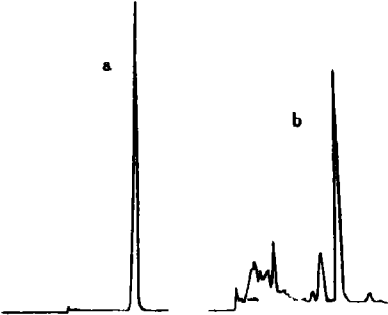


图 1 淫羊藿甙(a)和淫羊藿降压有效部位(b)HPLC 色谱图

3 结果

3.1 稳定性试验:取淫羊藿降压有效部位供

试液,进样 1 μL,每次平行进样 5 针,按上述色谱条件进行测定,分别考察其日内及日间稳定性,结果见表 1。

表 1 稳定性试验结果

日内			日间		
含量 (%)	平均 (%)	RSD (%)	含量 (%)	平均 (%)	RSD (%)
27.48	26.90		27.01	26.85	
27.04	26.98	27.21	1.22	26.96	27.29
27.65			27.54	27.13	1.04

3.2 精密度试验:淫羊藿降压有效部位试液,进样 1 μL,连续平行进样 5 次, RSD=0.64 %。

3.3 回收率试验:精密称取淫羊藿降压有效部位细粉 2 mg,分别加入浓度为 80 μg/mL、160 μg/mL、320 μg/mL 的淫羊藿甙对照液 4 mL,吹干后各加入 10 mL 甲醇 60 ℃加热提取 2 次,每次 0.5 h,过滤浓缩后加甲醇定容于 5 mL 容量瓶中,经 0.20 μm 微孔滤膜过滤。各自吸取滤液 1 μL 进样,测得加样回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率结果(n=5)

空白(μg)	加入量(μg)	总量(μg)	实测量(μg)	回收率(μg)	RSD(%)
0.104	0.064	0.165	0.061±0.00221	95.31±1.81	1.81
0.104	0.128	0.229	0.125±0.00508	97.66±2.03	2.03
0.104	0.256	0.355	0.251±0.00733	98.05±1.46	1.46

3.4 将不同产地淫羊藿药材制备的降压有效部位按上述同样条件进行分析,每个样品测定 3 次,取其平均值,结果见表 3。

表 3 药材制备的降压部位中淫羊藿甙含量

药材来源	有效部位中淫羊藿甙含量(%)
山东	26.91
江苏	18.99
湖南	27.23
辽宁	29.49
广西	10.74
黑龙江	18.32
甘肃	22.22
贵州	10.73

4 讨论

4.1 质量标准是中药新药研究的重要内容,

也是传统中药现代化的关键所在。我们对淫羊藿降压有效部位的成分进行了 RP-HPLC 分离。并建立了 RP-HPLC 法分析有效部位中淫羊藿甙含量的方法,这为淫羊藿降压有效部位质量标准的确定奠定了基础。

4.2 据文献报道,淫羊藿甙是淫羊藿中主要降压活性成分,在动物体内和体外均有较强的降压作用,并具有一定的扩冠作用,是近年来从中药中分离得到的较典型的降压扩冠活性成分^[2]。故我们主要以淫羊藿甙的含量控制淫羊藿降压有效部位的质量,制定相应的质量标准。

4.3 对不同产地的淫羊藿药材制备的降压有效部位均进了 RP-HPLC 分析,测得了其中淫

羊藿甙的含量。结果表明,不同产地药材制备的有效部位中活性成分淫羊藿甙含量差别较大,最高为 29.49%,最低为 10.73%,平均为 20.58%。提示我们制备淫羊藿降压有效部位时应注意原料药材产地,并为其质量标准的制定提供了参考。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典(下册). 上海:上海人民出版社,1971,2250
- 2 王小沙,等. 中国中西医结合杂志,1994,14(2):123
- 3 孔令义,等. 波谱学杂志,1996,13(6):595

(1997-01-09 收稿)

Content Analysis of Icariin in Hypotensive Portion of Longspur Epimedium(*Epimedium grandiflorum*) by Rp-HPLC

Kong Lingyi and Li Yi

A new method for content analysis of icariin in hypotensive portion of *Epimedium grandiflorum* by Rp-HPLC was established. The content of icariin in the hypotensive portions of crude drug prepared from different localities of China were determined. Results showed that the method may lay a good foundation for the quality control of preparation made from the hypotensive portion of *E. grandiflorum*.

毛细管气相色谱内标法测定月见草 种子油中 γ -亚麻酸的含量

生化教研室(100071) 路萍* 赖炳森 王映强 谭亚芳
中国人民解放军北京医学高等专科学校 色谱学实验室 颜小林 郑成贵

摘 要 讨论了用毛细管气相色谱法测定月见草种子油中的 γ -亚麻酸含量,种子油中脂肪酸用 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇液皂化,三氟化硼-甲醇液酯化成脂肪酸甲酯。采用 Rtx-5 毛细管柱,十七烷酸($C_{17:0}$)甲酯作为内标物,对 γ -亚麻酸进行了定量分析。结果表明,月见草种子油中 γ -亚麻酸的含量占 11.23%。

关键词 气相色谱法 γ -亚麻酸 月见草 内标法

月见草油中的有效成分是 γ -亚麻酸,在医学上具有较大的应用价值,特别是在降血脂、抑制血小板聚集、抗动脉粥样硬化和抗脂质过氧化等方面具有广阔的应用前景^[1]。月见草油中脂肪酸的分析,多采用填充柱气相色谱法,我们采用空心石英毛细管柱气相色谱法分析月见草油中的脂肪酸,并用内标法对 γ -亚麻酸的含量进行了测定。

1 材料与仪器

1.1 样品:月见草种子购于吉林通化。将粉碎的月见草种子 80 g,置滤纸筒内于索式提取器中,用乙醚回流提取 6 h^[2],回收溶剂得到月见草种子油,收率为 17.5%。

1.2 脂肪酸标准品:十七烷酸($C_{17:0}$)甲酯, γ -亚麻酸($C_{18:3}$)甲酯、亚油酸($C_{18:2}$)。纯度 >99%,Sigma 公司产品。

* Address: Lu Ping, Department of Chemistry, Beijing Medical College of PAL, Beijing

路萍女,讲师,1983年毕业于中国人民解放军第三军医大学军医专业,学士学位。毕业后一直在中国人民解放军北京医学高等专科学校从事生物化学教学和科研工作。在全国各级刊物发表医学论文 20 余篇,其中《超临界 CO_2 技术萃取蛋黄磷脂的研究》属国内先进水平,获中国人民解放军科技进步二等奖。《猪脾转移因子制剂对红细胞功能影响的研究》获中国人民解放军科技进步三等奖。目前正在从事多烯脂酸实验方面的研究工作。