

仙灵骨葆胶囊中总黄酮及淫羊藿苷的含量测定

中国医学科学院 药用植物研究所 (北京 100094) 王玉萍* 郭宝林
中国协和医科大学

摘要 采用高效液相色谱法和紫外分光光度法测定了仙灵骨葆胶囊中淫羊藿苷和总黄酮的含量,二者含量分别为 4.16~27.67 mg/g 和 62.56~109.78 mg/g,方法回收率分别为 96.17% 和 103.58%,为制剂的质量控制提供了依据。

关键词 仙灵骨葆胶囊 总黄酮 淫羊藿苷 紫外分光光度法 高效液相色谱法

Quantitative Analysis of Total Flavonoids and Icaritin in “Xianlinggubao Capsule”

Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College (Beijing 100094)

Wang Yuping and Guo Baolin

Abstract Icaritin and total flavonoids in “Xianlinggubao Capsule”, a Chinese herbal preparation containing *Epimedium* L. as the main ingredient for the treatment of osteoporosis, were determined quantitatively by HPLC and UV spectrophotometry respectively. It was found that the contents of icaritin were 4.16~27.67 mg/g and that of flavonoids were 62.56~109.78 mg/g. The recoveries were 96.17% and 103.58% respectively. The method could be used for the quality control of the drug.

Key words Xianlinggubao Capsule total flavonoids icaritin UV-spectrophotometry HPLC

骨质疏松是老年人尤其是老年妇女的常见病。仙灵骨葆胶囊 (卫药准字 (1996) 第 100019 号) 治疗骨质疏松,具有补肾、壮骨和强身功效。处方中淫羊藿是君药,其主要活性成分为淫羊藿苷。淫羊藿苷的含量测定方法有薄层洗脱-紫外分光光度法^[1], HPLC 法^[2,3]。我们采用紫外分光光度法和反相高效液相色谱法分别测定了 15 批仙灵骨葆胶囊中总黄酮和淫羊藿苷的含量,为成药的质量控制提供了依据。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪 (包括 510 型泵, 490 E 型检测器, U6K 型进样器, 810 色谱工作站)。UV-可见分光光度计。Elma 超声波清洗器。

仙灵骨葆胶囊由贵州仙灵药业有限公司提供。淫羊藿苷为自制,含量 99% 以上。试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 总黄酮的含量测定

2.1 标准曲线制备:精密称取干燥至恒重的淫羊藿苷 1 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 置 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。以甲醇为空白,于 190~400 nm 进行扫描,结果淫

羊藿苷在 270 nm 处有吸收峰。以淫羊藿苷浓度为横坐标,270 nm 吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。淫羊藿苷在 0.052~0.260 mg/mL 范围内呈良好线性,回归方程 $A = 36.5549C - 0.028$, $r = 0.99994$ 。

2.2 回收率实验:精密称取不含淫羊藿的阴性对照品粉末 0.5 g,加入淫羊藿苷对照溶液 0.5 mL,按样品测定方法进行测定。结果平均回收率为 103.58%, $RSD = 3.16\%$ ($n = 5$)。

2.3 样品的测定:精密称取胶囊粉末 0.5 g,置具塞三角瓶中,精密加入 70% EtOH 25 mL,超声提取 30 min,补足原重,摇匀,过滤,精密量取续滤液 5 mL,减压蒸干溶剂,残渣加 MeOH 溶解并转溶至 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取样品溶液 0.2 mL 置 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,于 270 nm 波长处测定吸光度,按照回归方程计算含量,结果见表 1。

3 淫羊藿苷的测定

3.1 色谱条件:色谱柱: YWG-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇-水 (60:40), 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 270 nm; 灵敏度: 0.08 AUFS。

表 1 仙灵骨葆胶囊中淫羊藿苷和总黄酮的含量

批号	淫羊藿苷含量 (mg/g)	总黄酮含量 (mg/g)
980114	7.59	62.56
980406	11.27	70.36
980701	4.87	84.18
981108	4.57	102.86
981211	5.29	103.27
990116	5.72	99.40
990203	5.98	102.40
990601	5.44	102.79
990606	7.68	106.46
990609	4.16	109.78
990706	5.22	99.64
990709	27.67	139.32
990711	9.76	97.94
990712	5.09	92.53
990716	5.86	98.18
阴性对照	0	21.36

3.2 标准曲线的制备:精密称取干燥至恒重的淫羊藿苷 10 mg 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为标准溶液。精密量取该标准溶液 5, 10, 20, 30, 50, 80, 100, 200, 300 μ L,置 1 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,分别吸取 20 μ L,注入液相色谱仪,按色谱条件进行测定。淫羊藿苷在 0.98~5.900 μ g 之间线性良好,回归方程: $A=4.0575\times$

$10^8C-1.65\times 10^5$, $r=0.9998$

3.3 精密度实验:精密吸取标准溶液,重复进样 5 次,测得峰面积积分值的 $RSD=1.12\%$ 。

3.4 重现性实验:精密称取同一批号样品 4 份,按样品测定方法进行测定,结果样品淫羊藿苷含量为 7.59 mg/g, RSD 为 2.48%。

3.5 稳定性实验:取配置好的样品溶液,分别于 30, 60 min, 24 h 进行测定,结果 $RSD=2.32\%$ 。

3.6 回收率实验:分别称取阴性对照品粉末 0.5 g 和胶囊粉末 0.2 g,分别加入淫羊藿苷对照溶液 1.0 mL 和 0.5 mL,按样品测定方法进行测定。结果平均回收率为 96.17%, $RSD=1.88\%$ ($n=6$)。

3.7 样品的提取方法:比较了 MeOH 70% EtOH 超声 30 min 提取。结果确定 70% EtOH

3.8 样品的测定:精密称取胶囊粉末 0.5 g,置具塞三角瓶中,精密加入 70% EtOH 25 mL,超声提取 30 min,补足原重,摇匀,过滤,精密量取续滤液 5 mL,减压蒸干溶剂,残渣加 MeOH 溶解并转溶至 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密吸取 20 μ L,注入液相色谱仪,按色谱条件进行测定,根据标准曲线计算含量,结果见表 1 图 1

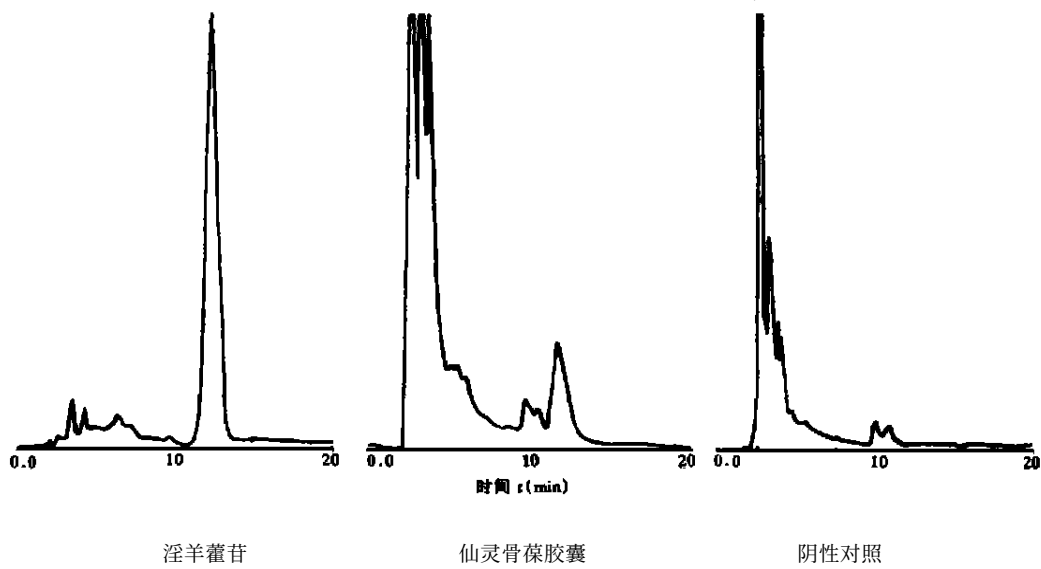


图 1 样品 HPLC图

3.9 阴性对照品的处理:同样品。

4 讨论

4.1 比较了 70% EtOH 样品提取液经过聚酰胺柱处理前后 HPLC 测定的数据,结果无明显差别,故样品处理采用 70% EtOH 提取,残渣甲醇定容后测定。

4.2 样品液经聚酰胺处理前后 UV 吸收无明显改变

参考文献

1 中华人民共和国药典·一部, 1995 287
2 郭宝林,王春兰,陈建民,等. 药学学报, 1996, 31(4): 292
3 柴逸峰,李修禄. 药物分析杂志, 1991, 11(3): 207

(1999-12-26 收稿)