

合对照品溶液,制备供试品溶液,各水平平行操作 3 份,在上述色谱条件下进样分析,计算回收率。结果白术内酯 I、II、III 的平均回收率分别为 97.92%、103.15%、100.78%,RSD 分别为 0.67%、0.68%、4.64%。

2.10 样品测定:取各白术炮制品制备供试品溶液,进行测定,进样量为 10 μL,以外标法计算白术内酯 I、II、III 的质量分数,结果见表 1。白术饮片经炮制后各成分变化各异:加辅料炮制后白术内酯 I、II 呈增长趋势,白术内酯 III 则减少;炮制后,内酯总量增加明显。尤其是土炒白术最高,但炮制样品中白术的变化规律有待进一步考察。

表 1 白术不同炮制品中白术内酯 I、II、III 的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of atractylenolide I, II, and III in *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* by different processings (n=3)

炮制品	白术内酯 I (mg·g ⁻¹)	白术内酯 II (mg·g ⁻¹)	白术内酯 III (mg·g ⁻¹)	内酯总量 (mg·g ⁻¹)
白术生片	0.475 2	0.385 5	0.465 4	1.326 1
麸炒白术	0.503 4	0.266 4	0.765 0	1.534 8
清炒白术	0.532 9	0.262 1	0.796 0	1.591 0
土炒白术	0.609 9	0.319 2	0.808 9	1.738 0

3 讨论

本实验利用 DAD 检测器能同时采集多个波长数据的便利条件,样品在同一色谱条件下进行一次

分析同时得到 3 个成分的图谱;出峰时间适中,峰形对称,分离度符合要求;所用样品测定提取方法的方法学考察符合要求,简化了白术测定的繁琐步骤,为探索制订完善的白术原药材、炮制饮片的质量标准提供了依据。

经过 Agilent 1100 DAD 三维图谱分析,白术内酯 I、II 在 220 nm 处有最大吸收,白术内酯 III 在 276 nm 处有最大吸收,为了能在一个条件下检测,因此选择同时检测两个波长信号。

本实验曾试过乙腈-水、甲醇-水等不同的流动相系统,发现甲醇-水系统可获得较好峰形和适合的极性范围;为了能同时测定 3 个内酯成分,尝试了不同的流动相比比例,结果以本实验流动相梯度洗脱程序,获得较好的分离,3 个成分分离度均大于 1.5,拖尾因子在 0.95~1.05。

分别考察了甲醇、乙醇、醋酸乙酯、丙酮等不同提取溶剂,超声、回流等不同提取方式,并进行了提取时间为 30 min、1 h、2 h,提取次数为 1、2 次的考察,结果表明,以甲醇超声 30 min 一次即可提取完全,与长时间的提取结果相差很小,因此确定该提取方法。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] Endo K, Toguchi T, Toguchi F, et al. Antiinflammatory principle of *Atractylodes rhizomes* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1979, 27:2954.
- [3] 龚千锋.中药炮制学[M].北京:中国中医药出版社,2004.

HPLC 法测定抗骨增生软胶囊中淫羊藿苷

叶英响¹,石森林^{2*},高 敏²

(1.义乌市中心医院,浙江 义乌 322000;2. 浙江中医药大学药学院,浙江 杭州 310053)

抗骨增生软胶囊由淫羊藿、鹿衔草、鸡血藤、熟地黄等中药组成,具有补肾、活血、止痛之功效,用于肥大性脊椎炎、颈椎病、跟骨刺、增生性关节炎、大骨节病。为了控制抗骨增生软胶囊内在质量,本实验对方中主要活性成分淫羊藿苷进行了测定,结果方法简便、准确,重现性好,可作为该制剂的测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,浙江大学 N2000 色谱工作站;Sartorius BP211D 电子天平, JL-

180DTH 超声波清洗器。

抗骨增生软胶囊和缺淫羊藿阴性样品(自制);淫羊藿苷对照品(批号 110737-200111)购自中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯(Fisher Chemicals),水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择:对淫羊藿苷对照品溶液进行紫外扫描(200~400 nm),结果淫羊藿苷在 270 nm 波长处有最大吸收,因此选择 270 nm 作为检测

收稿日期:2008-01-11

作者简介:叶英响,男,主管中药师。

* 通讯作者 石森林 Tel:(0571)86613524 E-mail: pstone@163.com

波长。

2.2 色谱条件: Zorbax SB C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-冰醋酸 (24 : 76 : 0.1), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 40℃, 检测波长为 270 nm, 进样量为 10 μL。理论塔板数按淫羊藿苷计算应不低于 2 000。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品 9.03 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取上述溶液 10 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 36.1 μg/mL 淫羊藿苷对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 提取方法和提取溶剂的考察: 比较水浴加热回流 60 min 和超声处理 30 min 提取样品, 结果无明显差异, 由于超声简便易行, 故选用。淫羊藿苷的提取溶剂多用 50% 乙醇或甲醇, 试验结果表明采用甲醇较 50% 乙醇提取的杂质峰少, 故采用甲醇。

2.4.2 提取时间的考察: 精密取样 3 份, 用甲醇作为溶剂, 分别超声处理 20、30、40 min, 测定淫羊藿苷的质量浓度。结果超声处理 30 min 的提取液的测定结果与 40 min 的结果基本一致, 故确定超声提取时间为 30 min。

2.4.3 供试品溶液的制备: 取本品装量差异检查项下的内容物, 混匀, 取约 2.0 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 取出放冷, 用甲醇补足减失的质量, 振摇, 滤过, 取续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5 阴性对照溶液的制备: 取缺淫羊藿阴性样品 2.0 g, 按供试品溶液的制备方法制备缺淫羊藿的阴性对照溶液。

2.6 专属性试验: 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液分别进样分析, 结果阴性对照在供试品溶液相应位置上无干扰, 说明抗骨增生软胶囊中其他药味对淫羊藿苷的测定没有干扰。

2.7 线性关系考察: 精密称取淫羊藿苷对照品 8.20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。分别吸取淫羊藿苷对照品溶液 0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、1.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别进样 10 μL, 测定淫羊藿苷峰面积。以峰面积为纵坐标, 进样质量为横坐标, 得回归方程: $Y = 1 \times 10^6 X - 2 865.2$, $r = 0.999$ 。结果表明淫羊藿苷在 0.082~1.230 μg 与峰面积呈

良好的线性关系。

2.8 精密度的试验: 精密吸取 36.1 μg/mL 淫羊藿苷对照溶液和供试品溶液, 分别进样 10 μL, 连续进样 5 次, 测定淫羊藿苷峰面积, 计算得其 RSD 值分别为 1.29%、0.87%。

2.9 稳定性试验: 精密吸取 36.1 μg/mL 淫羊藿苷对照品溶液和供试品溶液, 于 0.2、4、8、16 h 分别进样 10 μL, 测定淫羊藿苷峰面积, 计算得其 RSD 值分别为 1.14%、1.09%, 表明对照品溶液和供试品溶液中淫羊藿苷均在 16 h 内稳定。

2.10 重现性试验: 取同一批样品, 共 5 份, 制备供试品溶液, 分别进样 10 μL 进行测定, 结果淫羊藿苷的平均质量分数为 0.39 mg/g, RSD 为 1.81%。

2.11 回收率试验: 采用加样回收法。取同一批含淫羊藿苷 0.39 mg/g 的样品约 1.0 g, 6 份, 精密称定, 精密加入淫羊藿苷对照品 0.309 6、0.387 0、0.464 4 mg, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。结果平均回收率为 99.9%, RSD 为 1.48%。

2.12 样品测定: 取 3 批抗骨增生软胶囊样品, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件分别进样 10 μL, 每批测定 2 次。另取淫羊藿苷对照溶液适量, 进样测定, 外标法计算样品中淫羊藿苷的质量分数, 结果见表 1。

表 1 抗骨增生软胶囊中淫羊藿苷的测定结果

Table 1 Determination of icariin in Kanggu Zengsheng Soft Pills


批号	淫羊藿苷/(mg·粒 ⁻¹)
1	0.25
2	0.20
3	0.22

3 讨论

抗骨增生软胶囊中含柚皮苷、生物碱等成分较多, 极易发生干扰, 而且含糖较多, 因此在比较了多种提取方法后, 采用甲醇提取, 结果表明, 在超声提取 30 min 后不仅可提取完全, 而且减少了糖的干扰。

采用 HPLC 法测定淫羊藿苷的文献报道较多, 考虑到淫羊藿苷的柱效和分离情况, 考察了乙腈-水 (30 : 70)、乙腈-水 (25 : 75)、乙腈-水-冰醋酸 (24 : 76 : 0.1) 为流动相; 结果乙腈-水-冰醋酸 (24 : 76 : 0.1) 为流动相分离效果满意, 淫羊藿苷峰可达基线分离, 峰形对称, 缺淫羊藿阴性对照无干扰。因此选用乙腈-水-冰醋酸 (24 : 76 : 0.1) 为流动相。

HPLC法测定抗骨增生软胶囊中淫羊藿苷

作者: [叶英响](#), [石森林](#), [高敏](#)
作者单位: [叶英响\(义乌市中心医院, 浙江, 义乌, 322000\)](#), [石森林, 高敏\(浙江中医药大学药学院, 浙江, 杭州, 310053\)](#)
刊名: [中草药](#) 
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(9)
被引用次数: 2次

引证文献(2条)

1. [宋根伟](#), [汪选斌](#), [姚霜](#), [毕文杰](#), [刘佳](#), [李洪亮](#), [熊先明](#) 高效液相色谱法测定黄龙止咳颗粒中淫羊藿苷含量[期刊论文]-[现代中西医结合杂志](#) 2011(31)
2. [郑林](#), [刘毅](#), [卢锦辉](#) HPLC法测定前列舒乐颗粒中淫羊藿苷[期刊论文]-[中草药](#) 2010(7)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809023.aspx