

表 1 样品测定结果

Tab 1 Results of detem ination

| 样品序号 | 琥珀酸含量 (mg/g) |
|------|--------------|
| 1    | 0.801        |
| 2    | 0.618        |
| 3    | 0.973        |

3 讨论

3.1 实验考察了 Tris-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>、Tris-枸橼酸、二乙胺-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>和 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-N aH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>等缓冲体系在不同浓度, 不同比例时对供试品溶液分离的影响。结果表明: Tris-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>体系基线稳定, 噪声较小, 且可达到基线分离。

3.2 实验比较了电渗流抑制剂和改向剂四乙稀五胺和 CTAB所加浓度对分离的影响, 阳离子表面活性剂可改变毛细管表面电荷, 从而抑制电渗流使之反向, 达到快速分离检测的目的。在 1mmol/L Tris-10mmol/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>的条件下, 改变加入的四乙稀五胺浓度: 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 1.2%, 1.4% 和 1.6%, 结果表明: 最佳浓度为 0.5%。实验还显示添加少量 CTAB(0.025mmol/L)时, 样品中各峰的峰宽减小,

峰形和分离度得到改善。

3.3 实验分别采用水、乙醇和不同浓度比的乙醇-水等作提取溶剂, 结果显示, 用 90% 乙醇作超声提取的溶剂, 提取效率较高, 杂质峰较少, 有利于分离测定。

参考文献

[ 1 ] YUAN S T. Study of Chinese Medicine Decoction Pieces for medical use(医用中药饮片学) [M]. 1st ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001: 483.

[ 2 ] WANG G ZH, ZHOU Y, CHEN J B *et al*. Determination of succinic acid in *Pheretina aspergillum* by TLCS [ J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志), 1997, 17(4): 274-275.

[ 2 ] FANG T H, YANG C P, SU W W. Study on TLC profile of *Pheretina aspergillum* and *Pheretina* (Dibong) Injection [ J]. Journal of Chinese Medicinal Materials (中 药 材), 2002, 25(11): 813-815

收稿日期: 2005-06-21

高效液相色谱法测定无价保真制剂中淫羊藿苷的含量

李 玲 玲 (厦门市药品检验所, 福建 厦门 361012)

摘要: 目的 建立无价保真胶囊、口服液中淫羊藿苷的测定方法。方法 采用高效液相色谱法。Nucleosil C<sub>18</sub> 色谱柱, 甲醇-水 (60:40)为流动相, 检测波长 270nm。结果 淫羊藿苷在 0.1~1.6μg 范围内具有良好的线性关系,  $r=0.9999$ 。胶囊剂的空白回收率、口服液的空白回收率分别为 100.56%、100.66% (RSD= 0.99%、0.86%,  $n=6$ )。结论 该方法灵敏、准确, 可用于无价保真制剂的质量控制。

关键词: 无价保真制剂; 高效液相色谱法; 淫羊藿苷

中图分类号: R917.792.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)06-0486-03

Determination of icaritin in Wujiabaozhen product by HPLC

LI Ling-ling (Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of icaritin in Wujiabaozhen product. **METHODS** Column: ODS-C<sub>18</sub>, phase: methanol-water (60:40), wavelength: 270nm. **RESULTS** The calibration curve was linear within the range of 0.1~1.6μg of icaritin. The results showed that the blank recovery of capsule and liquid were 100.56% and 100.66% with RSD of 0.99% and 0.86%. Icaritin was satisfactorily separated under the chromatographic condition. **CONCLUSION** The method is sensitive and accurate, and it can be used to control the quality of the Wujiabaozhen product.

**KEY WORDS** Wujiabaozhen product; HPLC; icaritin

无价保真制剂是由淫羊藿、石斛、肉苁蓉、茯苓等十几味中药材制成的中成药, 剂型分为胶囊剂和口服液, 具有温肾壮阳, 益精补髓, 固涩滋阴, 益气养血, 抗疲劳之功效。淫羊藿是方中君药, 在处方中所占比例最大, 淫羊藿含有多种黄酮类化合物, 淫羊藿苷为淫羊藿有效成分的代表, 选定淫羊藿苷为含量测定指标。文献报道淫羊藿苷的含量测定方法

有高效液相色谱法<sup>[1]</sup>、大孔树脂-紫外法<sup>[2]</sup>、薄层扫描法<sup>[3]</sup>。本处方因是复方制剂, 成分较多, 高效液相色谱能有效分离组分, 重现性好, 故选用高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters 490 泵, 486 紫外检测器, 大连江申色谱工作站; 甲醇用色谱纯, 水用高纯水, 其余为 AR 级

试剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: 十八烷基键合硅胶 ODS 柱 (Nucleosil), 4 mm × 250mm; 流动相: 甲醇-水 (60:40); 检测波长 270nm; 柱温: 室温; 流量 0.7mL·min<sup>-1</sup>。以淫羊藿苷峰计算, 理论板数应不低于 1500。

2.2 线性试验

取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇配制成 0.05mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 精密吸取对照品溶液 2.8 16 24 32μL 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 淫羊藿苷量为横坐标绘制标准曲线  $Y = 7.0 \times 10^6 X + 3.0 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$ , 表明淫羊藿苷在 0.1~1.6μg 范围内具有良好的线性关系。

2.3 精密度与稳定性试验

精密吸取样品溶液, 重复进样 8 次, 淫羊藿苷峰面积积分值平均为 6543602, RSD 为 0.8%。按上述色谱条件, 每隔一定时间, 精密吸取样品溶液 10μL, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 结果 48h 样品峰面积积分值重现性良好, RSD 为 1.4%。

2.4 专属性试验

按样品测定法, 称取缺淫羊藿苷的阴性样品, 依法处理, 制备阴性样品溶液, 进样, 记录色谱图, 结果在淫羊藿苷相应位置上, 未呈现色谱峰。实验结果表明阴性溶液中的组分不干扰淫羊藿苷的测定。

2.5 重复性试验

取同一批口服液样品 8 份, 分别依法提取制成供试品, 进样分析, 每份连续进样 3 次, 测定峰面积, 并计算含量, 结果平均为 0.168% (g/mL), RSD 为 1.6%。取同一批胶囊样品 8 份, 分别依法提取制成供试品, 进样分析, 每份连续进样 3 次, 测定峰面积, 并计算含量, 结果平均为 0.283% (g/mL), RSD 为 1.3%。

2.6 回收率试验

①空白回收率试验: 取除去欲测的淫羊藿药材后制成的口服液 10mL 或胶囊 1.0g 精密加入一定量的淫羊藿苷对照品, 依法测定, 结果见表 1。

②加样回收率试验: 取已被测定含量的样品, 再精密加入一定量的淫羊藿苷对照品, 依法测定, 计算加样回收率, 结果见表 2。

2.7 样品测定

2.7.1 对照品溶液的制备 取淫羊藿苷对照品约 2.5mg 精密称定, 置于 100mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。

2.7.2 口服液供试品溶液的制备 精密量取本品 10mL, 置于分液漏斗中, 加水 5mL, 加入乙酸乙酯 (30:20:20:20mL) 萃取, 合并萃取液, 于水浴上蒸干, 加甲醇溶解, 定量转移至 25mL 量瓶中并稀释至刻度, 精密吸取 5mL 置 50mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 作为供试品溶液。

表 1 空白回收试验结果 (n= 3)

Tab 1 Results of blank recovery experiments (n= 3)

| 剂 型 | 加入量<br>(mg) | 被测量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | RSD<br>(%) |
|-----|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| 口服液 | 10.05       | 10.021      | 99.71      |              |            |
|     | 10.17       | 10.212      | 100.41     |              |            |
|     | 9.89        | 9.876       | 99.86      |              |            |
|     | 10.11       | 10.179      | 100.68     | 100.66       | 0.86       |
|     | 10.15       | 10.282      | 101.30     |              |            |
| 胶 囊 | 9.92        | 10.117      | 101.99     |              |            |
|     | 3.25        | 3.261       | 100.04     |              |            |
|     | 3.09        | 3.162       | 102.33     |              |            |
|     | 3.31        | 3.296       | 99.58      | 100.56       | 0.99       |
|     | 3.12        | 3.089       | 99.01      |              |            |
|     | 3.21        | 3.219       | 100.28     |              |            |
|     | 3.02        | 3.067       | 101.56     |              |            |

表 2 加样回收试验结果 (n= 3)

Tab 2 Results of sample recovery experiments (n= 3)

| 剂 型 | 制剂中含量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 被测量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | RSD<br>(%) |
|-----|---------------|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| 口服液 | 5.15          | 5.23        | 10.425      | 100.86     |              |            |
|     | 5.15          | 5.18        | 10.331      | 100.02     |              |            |
|     | 5.15          | 5.29        | 10.587      | 102.78     | 101.34       | 1.2        |
|     | 5.15          | 5.11        | 10.282      | 100.43     |              |            |
|     | 5.15          | 5.32        | 10.617      | 102.76     |              |            |
|     | 5.15          | 5.28        | 10.492      | 101.17     |              |            |
| 胶 囊 | 1.523         | 1.508       | 3.039       | 100.53     |              |            |
|     | 1.541         | 1.513       | 3.067       | 100.86     |              |            |
|     | 1.519         | 1.502       | 3.016       | 99.67      | 100.67       | 0.61       |
|     | 1.522         | 1.510       | 3.038       | 100.40     |              |            |
|     | 1.527         | 1.506       | 3.051       | 101.20     |              |            |
|     | 1.509         | 1.506       | 3.036       | 101.39     |              |            |

2.7.3 胶囊剂供试品溶液的制备 精密称取本品约 1g 精密称定, 置于三角锥瓶中, 加入 70% 乙醇 60mL, 超声提取 60min 过滤, 滤液置于 100mL 量瓶中, 用少许 70% 乙醇洗涤残渣数次, 洗液并入量瓶中, 加 70% 乙醇定容至刻度, 作为供试品溶液。

2.7.4 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10μL 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以外标法计算, 即得。

表 3 样品测定结果 (%) (n= 3)

Tab 3 Results of determination (n= 3)

| 剂 型 | 批 号   | 淫羊藿苷含量 | RSD% |
|-----|-------|--------|------|
| 口服液 | 61029 | 0.047  | 1.6  |
|     | 61104 | 0.103  | 1.7  |
|     | 70415 | 0.103  | 1.9  |
|     | 70520 | 0.078  | 1.7  |
|     | 70525 | 0.090  | 1.3  |
|     | 70624 | 0.110  | 2.0  |
|     | 70720 | 0.088  | 0.6  |
| 胶囊剂 | 70114 | 0.269  | 1.2  |
|     | 70303 | 0.320  | 1.9  |
|     | 70420 | 0.286  | 1.9  |

注: 胶囊剂含量为 g/g 口服液含量为 g/mL

Note: g/g for the content of capsule; g/mL for the content of liquid

### 3 讨论

淫羊藿苷易溶于甲醇、乙醇等极性溶剂,在乙酸乙酯中有较好的溶解性,口服液采用乙酸乙酯萃取,比较提取次数,优选提取4次,认为提取完全。胶囊剂采用70%乙醇,比较提取次数和方法优选超声提取60min。

样品中淫羊藿苷含量差异较大,尤其口服液变化更大。经考察原料淫羊藿药材,发现不同采收季节,淫羊藿叶片老嫩程度不同,淫羊藿苷含量差异大,最大相差近40倍,使用优质原料投料是药品质量的保证,因实验批数不足,含量测定限度有待考察更多样品后确定。

### 参考文献

[1] SHA Z F, SUN W J. Determination of Icarin by HPLC [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis (药物分析杂志), 1988

8(6): 341-342

[2] ZHAO C X, YU H N, QI X *et al*. Determination of Icarin in Guji Zengsheng Zhongyao by Big bore resin UV method [J]. Chinese Traditional Patent Medicine (中成药), 1996 18(3): 14-16

[3] NI J. Determination of Icarin in Fudhu Tablet by Re-HPLC [J]. Chinese Traditional Patent Medicine (中成药), 1994 14(1): 11-12

收稿日期: 2005-10-28

## 高效液相色谱法测定 3-叔丁基-4-羟基苯甲醚的含量及有关物质

赵鹏<sup>1</sup>, 王东凯<sup>1\*</sup>, 宋扬<sup>1</sup>, 高飞<sup>1</sup>, 孔俐文<sup>1</sup>, 张维军<sup>2</sup> (1 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016 2 辽宁电力中心医院, 沈阳 110016)

**摘要:** 目的 建立测定 3-叔基-4-羟基苯甲醚含量及有关物质的方法。方法 采用 Diamonsil<sup>TM</sup> (钻石) C<sub>18</sub> ODS 柱 (4.6mm × 250mm, 5μm); 流动相为乙腈-乙醇 (80:20), 流速为 0.5mL·min<sup>-1</sup>, 紫外检测波长为 290nm, 柱温为 30℃。结果 在本色谱条件下 3-叔基-4-羟基苯甲醚与有关物质及溶剂峰分离度符合要求, 在 450~1050μg·mL<sup>-1</sup> 范围内线性良好 ( $r=0.9998$ )。结论 测定方法简便、准确、灵敏度高、方法可靠, 可作为质量控制方法。

**关键词:** 3-叔基-4-羟基苯甲醚; 反相高效液相色谱法; 含量测定; 有关物质

中图分类号: R917.720.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)06-0488-02

### RP-HPLC determination of the content of butylated hydroxyanisole and its related compounds

ZHAO Peng<sup>1</sup>, WANG Dong-kai<sup>1\*</sup>, SONG Yang<sup>1</sup>, GAO Fei<sup>1</sup>, KONG Liwen<sup>1</sup>, ZHANG Weirun<sup>2</sup> (1 School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China; 2 Liaoning Electronic Center Hospital, Shenyang 110016 China)

**ABSTRACT:** **OBJECTIVE** To establish an RP-HPLC method for the determination of butylated hydroxyanisole and its related compounds. **METHODS** The separation was performed with a Diamonsil<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> ODS column (4.6mm × 250mm, 5μm) at 30℃, and the mobile phase consisted of acetonitrile-alcohol (80:20) with the rate of 0.6mL·min<sup>-1</sup>, UV detection wavelength was at 290nm. **RESULTS** Butylated hydroxyanisole had a good linear relation over the range of 450~1050μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.9997$ ). **CONCLUSION** This method is simple, accurate, sensitive and applicable for the quality control of this preparation.

**KEY WORDS** butylated hydroxyanisole; RP-HPLC; determination; related compounds

3-叔丁基-4-羟基苯甲醚广泛用于化妆品、食品、制剂中。在食品中,用于延缓或防止脂肪和油的酸败,防止油溶性维生素的活性丧失。3-叔丁基-4-羟基苯甲醚经常与其他抗氧化剂联合使用,尤其是与丁羟甲苯、焙酸烷基酯、螯合剂或增效

剂如枸橼酸等联用。中国药典尚未收载,但已被美国药典收载,目前笔者尚未见到有关 HPLC 法测定 2,6-二叔丁基对甲酚含量及有关物质的报道,具体研究如下。

#### 1 仪器与试药

作者简介: 赵鹏 (1981-), 男 (汉族), 吉林省吉林市人, 沈阳药科大学在读硕士研究生, 专业: 药剂学 Tel (024) 23986127, 13516040236 E-mail zhaopeng3442@126.com; 通讯地址: 辽宁省沈阳市文化路 103 号 沈阳药科大学 57 号信箱 邮编 110016

\* 通讯作者