

# 阳春片的质量标准研究

陈学松, 刘慧妍(梧州食品药品检验所, 广西 梧州 543002)

**摘要:** 目的 建立阳春片质量控制方法。方法 用薄层色谱法对该药中的淫羊藿、山茱萸进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定淫羊藿苷含量。结果 薄层色谱鉴别斑点清晰, 阴性对照无干扰, 淫羊藿苷在 20~1 000 ng 内线性关系良好( $r=0.999\ 9$ ), 平均回收率为 99.12%, RSD 为 1.67%( $n=6$ )。结论 该方法操作简便, 结果稳定可靠, 专属性强, 可为该制剂的质量控制提供参考。

**关键词:** 阳春片; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 淫羊藿苷

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)03-0263-03

## Study on the Quality Standard of Yangchun Tablets

CHEN Xuesong, LIU Huiyan(Wuzhou Institute for Food and Drug Control, Wuzhou 543002, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the method for quality control of Yangchun tablets. **METHODS** Epimedium, ursolic acid were identified by TLC. The content of epimedium was determined by HPLC. **RESULTS** The spots of TLC were distinct, the negative sample had no interference. The linear regression for icariin was obtained over the range of 20~1 000 ng( $r=0.999\ 9$ ). The average recovery was 99.12%, RSD=1.67%( $n=6$ ). **CONCLUSION** The established method is simple, feasible and repeatable, and can be used for the quality control of Yangchun tablets.

**KEY WORDS:** Yangchun tablets; TLC; HPLC; icariin

阳春片是由人参、鹿茸、淫羊藿、山茱萸等中草药组成。具有补肾壮阳、生精益脑的功效, 用于肾阳不足、肾精亏损引起的阳痿不举、滑精、早泄, 失眠健忘、肾虚腰痛。为控制该药品的质量, 本试验对该药中的淫羊藿、山茱萸 2 种药材进行了薄层鉴别, 并采用 HPLC 测定淫羊藿中淫羊藿苷的含量。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

岛津 LC-2010 高效液相色谱仪(日本岛津), 日本 AND GR-202 电子分析天平, CQX25-06 超声波清洗器(上海必能信超声有限公司)。

#### 1.2 试剂

阳春片(批号: 070305, 070317, 070409)及其阴性制剂由广西强寿药业集团有限公司提供; 熊果酸对照品(批号: 110742-200314, 供含量测定用)和淫羊藿苷对照品(批号: 0737-200111, 供含量测定用)购于中国药品生物制品检定所; 硅胶 G、GF<sub>254</sub> 为化学纯(青岛海洋化工厂); 其他化学试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层鉴别

##### 2.1.1 淫羊藿鉴别

取本品 3 片, 研细, 加水 15 mL,

超声处理 15 min, 滤过, 滤液用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 15 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 加入已处理好的聚酰胺柱(内径 1 cm, 聚酰胺粉 2 g, 干法装柱), 用乙酸乙酯 20 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取淫羊藿的阴性样品同法制成阴性对照溶液。另取淫羊藿苷对照品, 加甲醇制成 1 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以乙酸乙酯-丁酮-甲醇-水(10:1:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显示相同颜色的荧光斑点。阴性样品则不显示。见图 1。

**2.1.2 山茱萸鉴别** 取本品 15 片, 除去薄膜衣后研细, 加硅藻土 2 g, 加乙醇 50 mL, 置水浴上加热回流 10 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 15 mL, 分取正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇 5 mL 使溶解, 滤过, 作为供试品溶液。另取山茱萸的阴性样品同法制成阴性对照溶液, 再取熊果酸对照品, 加甲醇制成 1 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 4  $\mu$ L, 分别点于同

作者简介: 陈学松, 男, 副主任中药师

Tel: 13977483702

E-mail: dalansong@163.com

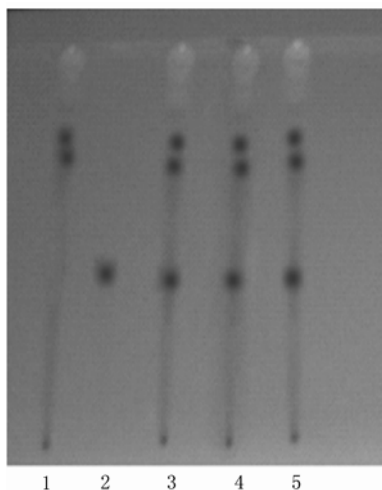


图1 淫羊藿薄层色谱

1-阴性样品; 2-淫羊藿苷对照品; 3, 4, 5-样品

Fig 1 TLC chromatogram of epimedium

1-negative sample; 2-icariin reference substance; 3, 4, 5-sample

一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(24:4:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10%硫酸乙醇溶液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显示相同颜色的斑点。阴性样品则不显示。见图 2。



图2 山茱萸薄层色谱

1-阴性样品; 2-熊果酸对照品; 3, 4-样品

Fig 2 TLC chromatogram of Comus Officinalis

1-negative sample; 2-ursolic acid reference substance; 3, 4-samples

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件分析** Hypersil-ODS<sub>2</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈-0.1%磷酸(30:70)为流动相; 流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为270 nm。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇制成 20 μg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 片, 除去薄

膜衣, 精密称定, 研细, 取 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇 50 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz)30 min, 放冷, 再称定重量, 用乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加水 25 mL 使溶解, 用乙酸乙酯振摇提取 5 次, 每次 25 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.4 含量测定** 分别精密吸取对照品和供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积积分值。按外标法以峰面积计算, 即得。

**2.2.5 专属性考察** 取缺淫羊藿阴性样品按“2.2.3”方法制备, 进样, 测定。图谱表明在“2.2.1”色谱条件下, 阴性对照无干扰, 结果见图 3。

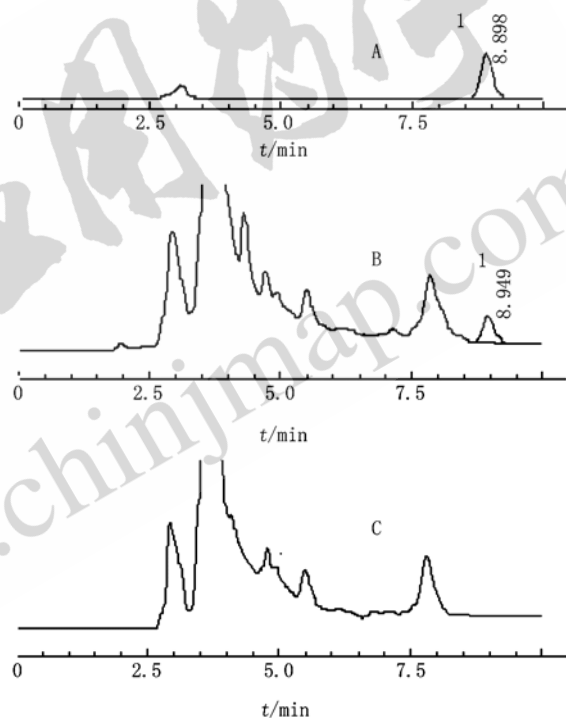


图3 淫羊藿苷对照品、样品、阴性样品 HPLC 色谱图

A-淫羊藿苷对照品; B-样品; C-阴性样品; 1-淫羊藿苷

Fig 3 HPLC chromatograms of icariin reference substance, sample and negative sample

A-icariin reference substance; B-sample; C-negative sample; 1-icariin

**2.2.6 标准曲线的制备** 精密称取淫羊藿苷对照品 5.02 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密吸取上述对照品液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 分别加甲醇至刻度, 摇匀, 得对照品溶液(浓度为 20 μg·mL<sup>-1</sup>), 按“2.2.1”色谱条件分别进样。吸取上述对照品溶液 1, 2, 5, 10, 50 μL, 注入色谱仪, 测定, 以峰面积积分值为纵

坐标(Y), 淫羊藿苷对照品进样量(ng)为横坐标(X)绘制标准曲线, 得回归方程为:  $Y=182\,541.5X+8\,106.2(r=0.999\,9)$ 。结果表明, 淫羊藿苷在20~1 000 ng内, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

**2.2.7 仪器精密度试验** 取同一份供试品溶液, 连续进样6次, 测定峰面积积分值, RSD为0.41%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 分别于0, 2, 4, 6, 8, 10 h测定峰面积积分值, RSD为0.77%, 表明10 h内稳定性良好。

**2.2.9 重复性试验** 精密称取同一批样品6份, 按“2.2.3”项下方法制备, 按“2.2.4”项下方法测定, 结果平均含量为 $0.178\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD=1.81%。

**2.2.10 加样回收率试验** 取已测定含量的阳春片适量, 研细, 取粉末(淫羊藿苷含量为 $0.178\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )约1 g, 精密称定, 平行取样6份。另取淫羊藿苷对照品4.75 mg置25 mL量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀(浓度为 $0.190\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。精密吸取上述溶液1 mL, 分别加入6份样品, 按“2.2.3”项下方法制备, 进样测定, 计算回收率, 结果见表1。

**2.2.11 样品含量测定** 按“2.2.4”含量测定方法, 测定了本品3批样品中的淫羊藿苷含量, 结果含量分别为0.178, 0.195, 0.202 mg。

表1 淫羊藿苷回收率测定结果( $n=6$ )

Tab 1 Determination results of recovery tests( $n=6$ )

| 含量/mg | 已知量/<br>mg | 测定量/<br>mg | 回收率/<br>% | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% |
|-------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 0.187 | 0.190      | 0.374      | 98.42     | 99.12       | 1.67      |
| 0.195 | 0.190      | 0.380      | 97.90     |             |           |
| 0.188 | 0.190      | 0.378      | 100.00    |             |           |
| 0.195 | 0.190      | 0.381      | 97.89     |             |           |
| 0.192 | 0.190      | 0.379      | 98.42     |             |           |
| 0.190 | 0.190      | 0.384      | 102.11    |             |           |

### 3 讨论

曾对本试验的 HPLC 样品前处理进行考察, 如仅用乙醇提取, 极性大的杂峰过多, 对淫羊藿苷峰造成一定的干扰, 增加液液萃取步骤后, 杂质干扰明显减少。

本试验对乙腈-0.1%磷酸、乙腈-水<sup>[1]</sup>、甲醇-1%醋酸<sup>[2]</sup>等流动相条件进行了考察, 结果发现乙腈-0.1%磷酸系统得到的色谱峰峰形、分离度最好。

### REFERENCES

- [1] LI Q J, LI H Y. Determination the content of icariin in Yinyangsu granules by HPLC [J]. Qilu Pharm Aff(齐鲁药事), 2006, 25(11): 662-663.
- [2] CHI Y M, FENG L, ZHANG A H. HPLC determination of content of icariin in Baji capsule [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med: Nat Sci (南京中医药大学学报: 自然科学版), 2006, 22(6): 384-385.

收稿日期: 2009-08-20