

高效液相法测定祛痹舒肩丸中淫羊藿苷的含量

申 强^{1,2}, 吕竹芬¹, 谢清春¹, 庄义修^{3*}

(1. 广东省药物新剂型重点实验室/广东药学院药物研究所, 广东 广州 510006; 2. 长治医学院, 山西 长治 046000; 3. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520)

[摘要] 目的: 建立以高效液相色谱法测定祛痹舒肩丸中淫羊藿苷含量的方法。方法: 色谱柱为 C₁₈ 柱(4.0 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(30:70), 检测波长为 270 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为室温。结果: 淫羊藿苷在(0.199 2~3.984) μg 范围内浓度与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 8$, $n=7$), 平均加样回收率为 98.2%, RSD 为 2.1% ($n=6$)。结论: 本方法简便、灵敏、准确, 可用于祛痹舒肩丸的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 祛痹舒肩丸; 淫羊藿苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0016-03

Determination of Icariin in Qubi Shujian Pills by HPLC

SHEN Qiang^{1,2}, LV Zhufen¹, XIE Qing-chun¹, ZHUANG Yi-xiu^{3*}

(1. Key laboratory of Advanced Durg Delivery of Guangdong Province, Institute of Material Medica, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006, China; 2. Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China; 3. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

[收稿日期] 2007-11-05

[基金项目] 广东省科技计划地市重点引导项目(No: 2006B35604008)

[通讯作者] * 庄义修, Tel: (020) 22846586, E-mail: zhuangyx@gdyzy.edu.cn。

[**Abstract**] **Objective:** To develop a HPLC method for determination of icariin in Qubi Shujian Pills. **Method:** The analysis was carried out on a Diamonsil C₁₈ column (4.0 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase acetonitrile-water (30: 70). The flow rate was 1.0 mL • min⁻¹ at the room temperature and the UV detection wavelength was 270 nm. **Results:** The calibration curve was Linear at the range of (0.199 2~ 3.984) μg for the icariin (*r* = 0.999 8, *n* = 7). The average recovery rate was 98.2% and RSD was 2.1% (*n* = 6). **Conclusion:** The method was rapid, sensitive and accurate, and could be used for the quality control of this preparation.

[**Key words**] HPLC; Qubi Shujian Pills; icariin

祛痹舒肩丸是由桂枝、羌活、黄芪、三七、淫羊藿等 14 味中药组成的中药复方制剂, 临床主要用于治疗肩关节性周围炎, 以治疗风寒痹为主^[1]。本品原质量标准中无淫羊藿苷的含量测定方法, 不利于制剂的质量控制。本文参照《中国药典》^[2], 建立了 HPLC 法测定祛痹舒肩丸中的淫羊藿苷的含量。本法操作简便, 灵敏度高, 重复性好, 结果准确可靠, 可作为该药的质量控制标准。

1 仪器与试剂

Dionex P680 高效液相色谱仪, Dionex UVD170U 可变波长检测器, Chromeleon 色谱工作站, Sartorius BS224S 电子分析天平, KQ-300VDE 型双频数控超声波清洗器。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110737-200413, 供含量测定用), 祛痹舒肩丸(汕头市麒麟药业有限公司, 批号: 20060609, 20060610, 20070521), 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Phenomenex C₁₈ 保护柱 (4.0 mm × 2.0 mm)。流动相为乙腈-水 (30: 70), 流速为 1.0 mL • min⁻¹, 检测波长为 270 nm, 柱温为室温, 进样量为 20 μL, 理论塔板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 3 000。

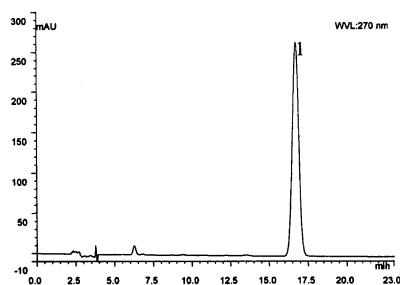
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥过夜(室温下)的淫羊藿苷对照品 9.96 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.199 2 mg • mL⁻¹ 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取祛痹舒肩丸 2 g, 研细, 精密称取粉末 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 20 mL, 称定重量, 超声处理 1 h, 放冷, 再称定重量, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得供试品溶液。

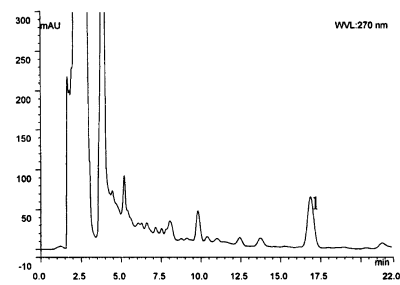
2.2.3 阴性对照液的制备 按制剂处方组成除去淫羊藿后, 根据样品制备工艺制备阴性对照, 按供试品溶液制备方法制成不含淫羊藿的阴性对照溶液。

以上 3 种溶液按上述色谱条件进样, 测定。结果供试品色谱图中与对照品色谱图中相应位置上有一相同保留时间的色谱峰, 淫羊藿苷峰与其他组分峰分离度良好, 阴性对照无干扰。结果见图 1~ 3。



1. 淫羊藿苷

图 1 淫羊藿苷对照品 HPLC 色谱图



1. 淫羊藿苷

图 2 祛痹舒肩丸供试品 HPLC 色谱图

2.3 标准曲线及线性关系考察 上述色谱条件下, 精密吸取上述对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 混匀, 与未稀释的对照品溶液一起, 分别进样 20 μL。以淫羊藿苷对照品峰面积积分值 *Y* (mAU • min⁻¹) 对进样量 *X* (μg) 进行线性回归, 得回归方程: $Y = 32.05X + 0.477 2$, 相关系数 $r = 0.999 8$ ($n = 7$)。可

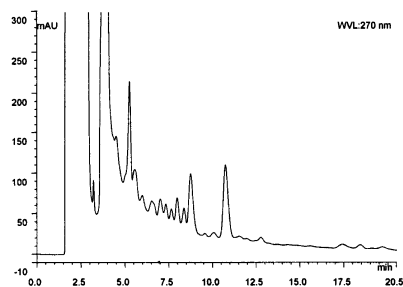


图 3 阴性对照 HPLC 图

见淫羊藿苷在(0.199 2~ 3.984) μg 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 分别吸取同一对照品溶液,连续进样 6 次,每次 20 μL 。所测得淫羊藿苷峰面积积分值的 RSD 为 0.51% ($n=6$),表明精密度良好。

2.5 重复性试验 取同批丸剂样品(批号:20060609),按 2.2.2 项下平行操作制备成 6 份供试品溶液后,按样品测定项下方法测定,平均含量为 $1.067 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 为 1.83% ($n=6$),表明重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:20060609),分别于制备后 0, 1, 2, 4, 8 h 重复进样,测得淫羊藿苷峰面积积分值的: RSD 为 1.43% ($n=5$),表明供试品溶液 8 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验 取上述已知含量的样品(批号:20060609),共 6 份,精密称定,每份精密加入一定量的对照品,按供试品溶液的制备项下处理并测定。外标法定量,结果见表 1。

2.8 样品含量测定 取不同批号的祛痹舒肩丸,按 2.2.2 项下制备,分别取对照品溶液与供试品溶液各以 20 μL 进样,按上述色谱条件测定,外标法定量,结果分别为 1.07, 1.18, 1.15 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

表 1 回收率测定结果($n=6$)

样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	实测总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.532 6	0.498	1.037 0	101.3		
0.526 4	0.498	1.027 0	100.5		
0.531 3	0.498	1.015 7	97.3		
0.534 3	0.498	1.015 8	96.7	98.2	2.1
0.532 2	0.498	1.013 2	96.6		
0.536 8	0.498	1.020 3	97.1		

3 讨论

本文对采用不同溶剂和不同超声处理时间的提取方法进行了比较,考察了稀乙醇、70%乙醇^[3]、甲醇^[4] 3 种提取溶剂,分别超声 20 min、1 h、1.5 h,结果以稀乙醇超声 1 h 提取效果最好。参照《中国药典》2005 年版一部中淫羊藿项下淫羊藿苷的含量测定方法选择流动相,使待测成分分离较好且峰形较佳。用 HPLC 法测定祛痹舒肩丸中淫羊藿苷的含量,经方法学研究表明此方法具有样品预处理简单,回收率好,重复性好,稳定性好及专属性强等优点,作为祛痹舒肩丸质量标准检测方法,能够更有效地控制该制剂的质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 国家药品监督管理局国家标准 WS3-314(Z-046)-99(Z) [S]. 新药转正标准中药, 第 23 册, 1999. 752.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 94.
- [3] 支月芳, 张赤兵, 周萍. 高效液相色谱法测定聚精丸中淫羊藿苷的含量[J]. 中国药物与临床, 2004, 4(5): 372.
- [4] 田原, 樊辉, 关开, 等. RP-HPLC 法测定补髓生血颗粒中淫羊藿苷($\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$)的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(3): 191.