

高效液相色谱法测定荣骨颗粒中淫羊藿苷的含量

张秀梅¹, 王金¹, 何薇^{2*}

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100013; 2. 北京市中医研究所, 北京 100010)

[摘要] 目的: 应用高效液相色谱(HPLC)法测定荣骨颗粒中淫羊藿苷的含量, 控制该制剂的质量。方法: 采用 Zorbax-SB-C₁₈ 柱(5 μm, 4.6 × 150 mm) 分离淫羊藿苷, 以甲醇-水(60: 40) 为流动相, 检测波长为 270 nm。结果: 淫羊藿苷线性范围为 0.1~1.0 μg, $r = 0.9999$, 平均回收率为 101.7%, RSD= 1.86% ($n = 5$)。结论: 该方法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 荣骨颗粒; 淫羊藿苷; 含量测定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)02-0010-02

Determination of Icariin in Ronggu Granule by HPLC

ZHANG Xiu-mei¹, WANG Jin¹, HE Wei^{2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine of Capital University of Medical Sciences, Beijing 100013, China;
2. Beijing Institute of TCM, Beijing 100010, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of Icariin in Ronggu Granule by HPLC for quality control. **Methods:** Zorbax-SB-C₁₈ (5 μm, 4.6 × 150 mm) column was used with methanol: water (60: 40) as mobile phase, and the determination wavelength was set at 270 nm. **Results:** The linear range was 0.1~1.0 μg for Icariin ($r = 0.9999$), the average recovery was 101.7% and RSD was 1.86% ($n = 5$). **Conclusion:** This method is simple, reliable and accurate for the determination of icariin, it can be used for quality control of this preparation.

[Key words] Ronggu Granule; Icariin; determination; HPLC

荣骨颗粒是首都医科大学附属北京中医医院妇科治疗骨质疏松症的临床经验处方剂改而成的颗粒剂, 由淫羊藿、补骨脂、巴戟天、当归等中药组成, 具有补肝肾、养精血、壮筋骨之功效, 用于妇女绝经后骨质疏松症的治疗。淫羊藿为方中主药, 其主要成分为淫羊藿苷, 是本制剂的有效成分之一。本文采用高效液相色谱法测定其中淫羊藿苷的含量, 取得了满意的结果, 可用于控制荣骨颗粒的质量。

1 仪器与试剂

LC-9A 高效液相色谱仪与 G-R6A 积分仪(日本岛津公司); AJ150 电子分析天平(METTLER); LD5-2A 离心机(北京医用离心机厂)。

淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 737-9203, 含量测定用); 荣骨颗粒(北京中医医院院内制剂, 批号: 010922、011120、050126); 聚酰胺(江苏临江试剂化工厂, 30~60 目, 柱层析用); 色谱用甲醇为色谱级, 其它化学试剂均为国产, AR 级。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Zorbax-SB-C₁₈ 柱(5 μm, 4.6 × 150 mm); 流动相: 甲醇-水(60: 40); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 紫外检测波长: 270 nm; 柱温: 室温。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 称取淫羊藿苷对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含有 1.01 mg 淫羊藿苷的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 研成细粉, 精密称取 1 g 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇 40 mL

[收稿日期] 2006-07-04

[通讯作者] * 何薇, Tel: (010) 52176671; E-mail: hewei1124@sina.com

浸泡 30 min, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 以甲醇定容至刻度。滤过, 精密吸取续滤液 25 mL 置蒸发皿中, 水浴蒸干。残渣用 10 mL 水溶解, 置聚酰胺层析柱(Φ1 cm, 3.5 g, 水洗后备用)上, 用蒸馏水 80 mL 冲洗, 水洗液弃去, 换用 95% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干。残渣用甲醇溶解, 定量转移至 10 mL 量瓶中并定容, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取全方缺淫羊藿的各味药材, 按处方比例和工艺制成阴性样品, 再按样品供试液的制备方法制成阴性对照液。

2.3 色谱行为 取阴性样品溶液、供试品溶液及对照品溶液, 依 2.1 色谱条件进样, 结果在与淫羊藿苷对照品色谱相应的位置上阴性样品无干扰峰出现, 说明方中其他成分对测定结果无影响。

2.4 线性关系的考察 精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 按 2.1 色谱条件进样 10 μL。以进样量 X (μg) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为: $Y = 1.65 \times 10^6 X - 1.65 \times 10^3$, $r = 0.9999$ ($n = 6$), 淫羊藿苷在 0.1~1 μg 范围内具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μL, 按色谱条件重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果 $RSD = 1.0\%$ ($n = 5$), 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 在 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h 进样, 每次 5 μL, 测定峰面积, 结果表明在 6 h 内供试品溶液稳定。

2.7 重复性试验 精密称定同一批号样品 5 份, 按供试品溶液的制备方法制备、测定, 进样量均为 5 μL, 得 $RSD = 2.1\%$, 结果表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的荣骨颗粒适量, 研成细粉, 精密称取 0.5 g, 共计 5 份, 分别加入 $1.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的淫羊藿苷对照品 1 mL, 其余同供试品溶液的制备方法制备、进样, 依法测定, 并计算回收率, 结果见表 1, 表明本法具有较好的加样回收率。

2.9 样品测定 分别精密量取 $0.0202 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.0606 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的淫羊藿苷对照品溶液及供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪中, 用外标两点法计算样品中淫羊藿苷的含量, 测定了 3 批样品(批号 010922, 011120, 050126) 中淫羊藿苷的含量分别为

2.16, 2.54, $2.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 淫羊藿苷加样回收率试验结果 ($n = 5$)

Tab 1 Results of recovery test ($n = 5$)					
取样量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.102	1.010	2.126	101.4		
1.104	1.010	2.144	103.0		
1.104	1.010	2.121	100.7	101.7	1.9
1.106	1.010	2.157	104.1		
1.110	1.010	2.111	99.1		

3 讨论

据文献报道, 淫羊藿苷的含量测定方法多为紫外分光光度法^[1]或高效液相色谱法, 而后者以其灵敏、准确、专属性强的优点, 已经成为目前最主要的测定淫羊藿苷含量的方法^[2-5]。本文采用的方法与药典测定药材中淫羊藿苷含量的方法相比, 流动相由乙腈: 水(30: 70)^[6]改为甲醇: 水(60: 40)更经济, 且结果表明用此流动相条件可排除制剂中其它成分的干扰, 简便准确, 可用于荣骨颗粒中淫羊藿苷含量的质量控制。

供试品溶液的净化处理是中成药质量控制中的关键因素之一, 本样品未经聚酰胺纯化时, 杂质对淫羊藿苷测定有干扰, 经聚酰胺纯化后干扰峰消失。

[参考文献]

[1] 张艺, 肖崇厚, 孟宪丽, 等. 8 种川产淫羊藿总黄酮的含量测定及资源利用[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(4): 201-202.

[2] 周琦, 辛俐华. 肾宝糖浆质量标准研究[J]. 中国药师, 2005, 8(6): 477-479.

[3] 金红宇, 杜勇, 王京辉, 等. HPLC 测定 3 种含动物中药复方口服液中淫羊藿苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(14): 1122-1124.

[4] 黄同德, 周贵枝, 申桂霞. HPLC 法测定复方淫羊藿颗粒中淫羊藿苷的含量[J]. 广西中医学院学报, 2005, 8(3): 95-96.

[5] 李元宏, 蒸吉炎, 朱海涛, 等. 高效液相色谱法测定固肾丸中淫羊藿苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 23-24.

[6] 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. 229.