

高效液相色谱法测定固肾丸中淫羊藿苷的含量

李元宏, 蒸吉炎, 朱海涛, 安志斌
(鄖阳医学院附属太和医院药学部, 湖北 十堰 442000)

摘要:目的: 采用 HPLC 法测定固肾丸中淫羊藿苷的含量。方法: Diamonsil™ C-18 色谱柱(200 × 4.6mm, 5μm), 加装 Phenomenex 保护柱; 流动相: 乙腈-水(20: 80); 流速: 1.0mL/min; 检测波长 270nm。结果: 淫羊藿苷线性范围 0.15μg~ 2.10μg, $r = 0.99998$ ($n = 6$); 平均回收率 97.42%, RSD 为 2.17% ($n = 6$)。结论: 本方法检测结果准确, 重复性好, 能有效地控制固肾丸的质量。

关键词: 固肾丸; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)05-0022-02

Determination of the Contents of Icaritin in Gushen Pills with HPLC

LI Yuan-hong, CHEN Ji-yan, ZHU Hai-tao, AN Zhi-bin

(Department of Pharmacy, Taihe Affiliated Hospital, Yunyang Medical College, Shiyan 442000, China)

Abstract: Objective: To establish the HPLC method for determination of icaritin in Gushen pills. Method: HPLC was performed on a Diamonsil C₁₈ column (4.6 × 200mm, 5μm) with acetonitrile-water (20: 80) as mobile phase. Detecting wavelength was 270nm and flow rate was 1.0mL/min. Result: A good linear relationship between peak area and concentration was noted at 0.15~ 2.10μg with a correlation coefficient of $r = 0.99998$ ($n = 6$) for icaritin. The recovery rate of icaritin was 97.4% (RSD= 2.17%). Conclusion: This method is accurate, repeatable and effective for quality control of Gushen pills.

Key words: Gushen pills; icaritin; HPLC; content

固肾丸由何首乌、淫羊藿、枸杞子等 19 味中药组成。具有养血健脾、温肾固本和调节女性内分泌平衡的作用。其中淫羊藿为方中主药, 故采用高效液相色谱法^[1]对固肾丸中淫羊藿苷的含量进行测定, 以控制该制剂的质量。

1 仪器和试剂

LC-10A 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器(日本岛津); HW-2000 色谱工作站(南京千谱); 淫羊藿苷含量测定用对照品购自中国药品生物制品检定所(批号: 0737-9709); 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯。固肾丸由本院药学部提供(批号: 20031115, 20031203, 20031225)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil™ C-18 色谱柱(200mm × 4.6mm, 5μm), 加装 Phenomenex 保护柱; 流动相: 乙腈

-水(20: 80); 流速: 1.0mL/min; 检测波长为 270nm; 柱温: 30℃, 进样量 10μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷干燥剂干燥 48h 的淫羊藿苷对照品约 10mg, 置 10mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得每 1mL 含 1.0mg 的贮备液。精密量取 1mL, 置 10mL 的容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得每 1mL 含 0.1mg 的对照品溶液。

2.3 空白试验 取不含淫羊藿的空白丸剂样品, 按照含量测定项下的方法制备, 依法测定, 结果在对照品淫羊藿苷出峰的位置无其它干扰峰出现, 表明丸剂中其它成分对淫羊藿苷峰无干扰。

2.4 线性关系考察 精密量取对照品项下的贮备液, 用甲醇稀释成(200、150、100、50、25、12.5) μg/mL 的溶液, 进样 10μL。以峰面积(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标进行回归, 回归方程为: $A = 1.04 \times 10^6 C + 3376.99$, $r = 0.99988$ ($n = 6$), 线性范围: 0.15μg~ 2.10μg。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 连续进样

收稿日期: 2004-11-30

通讯作者: 李元宏, Tel: (0719) 8801393, E-mail: liskey@mail.ihjy.net.

net.

6 次, 每次 10 μ L, 峰面积积分值 RSD 为 0.82% ($n=6$)。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液, 在 0.12、0.36、0.72、1.44、2.88、5.76、11.52、23.04、46.08h 分别进样, 每次 10 μ L。峰面积积分值 RSD 1.17% ($n=6$)。试验结果表明供试品溶液中淫羊藿苷在 8h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密称取同一批号样品 6 份, 按含量测定项下的方法制备, 依法进行测定, 样品中淫羊藿苷含量的 RSD 为 1.28% ($n=6$), 表明其重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的固肾丸 6 份, 每份约 1g, 精密称定, 置 25mL 容量瓶中, 加入对照品适量, 按含量测定项下的方法制备, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 固肾丸中淫羊藿苷加样回收率试验结果表

样品中含 量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.1712	0.1562	0.3199	95.21		
0.1801	0.1562	0.3321	97.31		
0.1743	0.1562	0.3250	96.48	97.42	2.17
0.1682	0.1562	0.3177	95.68		
0.1768	0.1562	0.3340	100.62		
0.1832	0.1562	0.3382	99.24		

2.9 样品含量的测定 取固肾丸 10 丸, 剪碎, 混匀, 精密称取约 3g, 置 25mL 容量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 密塞, 静置使充分溶胀, 超声处理 1h, 再加稀

乙醇至刻度, 过滤, 精密量取 10mL 续滤液, 用 60mL 乙酸乙酯分 3 次萃取, 收集乙酸乙酯层置水浴上挥干, 残渣以甲醇洗涤并定容至 5mL, 摇匀, 经 0.45 μ m 微孔滤头滤过, 取续滤液, 即得。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 进样。结果如表 2 所示。

表 2 固肾丸中淫羊藿苷含量测定结果表

批号	淫羊藿苷含量(mg/丸)
20031115	1.68
20031203	1.78
20031225	1.70

3 讨论

固肾丸药味较多, 成分复杂, 完全提取较为困难, 经比较试验, 采用超声波-萃取相结合的提取分离技术提取淫羊藿苷, 不仅排除了方中其他成分的干扰, 而且方法的精密度、回收率等均达到测定要求。

在选择流动相时, 曾对甲醇-水、乙腈-水的不同比例进行了比较研究, 结果表明选用乙腈-水(20:80)作为流动相, 淫羊藿苷与其它组分能达到较好分离。

参考文献:

- [1] 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, 2000. 267.