

• 药剂 •

安神补脑液中淫羊藿甙含量的高效液相色谱法测定

朱炳辉¹, 梁艺英¹, 莫金垣²

(1 广东省药品检验所, 广州 510180; 2 中山大学化学系, 广州 510275)

摘要: 报道了安神补脑液中淫羊藿甙的定量方法。HPLC 条件: 柱子 ODS-2(250mm×4.6mm, 5 μ m), 柱温为 30℃, 流速为 1ml/min, 检测波长为 270nm, 甲醇-水(600:400, v/v) 为流动相。以淫羊藿甙计理论塔板数不低于 6000。平均回收率和相对标准偏差分别为 99.6% 和 1.3% (n=5)。

关键词: 淫羊藿; HPLC; 安神补脑液

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(1999)06-0008-03

Determination of Icaritin in Anshenbunao Syrup by HPLCZHU Bing-hui¹, LIANG Yi-ying¹, MO Jin-yuan²

(1 Guangdong Provincial Institute for Drug Control, Guangzhou 510180;

2 Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract: The quantitative method of icaritin in Anshenbunao syrup was reported. The HPLC conditions were: column of Hypersil ODS-2(250mm×4.6mm, 5 μ m), column temperature at 30℃, flow rate at 1ml/min, detected wavelength at 270nm, methanol-water(600:400, v/v) as mobile phase. The theoretical plates of icaritin were not lower than 6000. The average recovery and relative standard deviation(RSD) were 99.6% and 1.3% (n=5) respectively.

Key words: icaritin; HPLC; Anshenbunao syrup

安神补脑液是由鹿茸、淫羊藿、制何首乌、已提挥发油的干姜、甘草、大枣等 6 味药材经水煮、醇沉、浓缩至一定醇含量后再加入干姜挥发油、维生素 B₁、苯甲酸和干糖浆等调配而成的液体制剂, 具有安神健脑、生精补髓、益气养血之功效。淫羊藿是本品的主药, 其有效成分淫羊藿甙的含量可作为本品质量控制的指标。中药制剂中淫羊藿甙含量的高效液相色谱(HPLC)测定法已有较多的报道, 其样品前处理方法较多的是采用多次萃取浓缩和用大孔树脂柱或聚酰胺树脂预分离方法^[1~4], 手续较为繁琐。文献^[5]报道了安神补脑液中淫羊藿甙含量的 HPLC 测定方法, 其样品前处理需经有机溶剂多次提取和浓缩, 色谱分离条件也有待改进。本文改进了 HPLC 法测定安神补脑液中淫羊藿甙含量的

色谱分离条件, 使待测成分与干扰杂质获得良好的分离; 建立了通过直接加入甲醇调整样品的溶剂组成, 然后经离心处理制得 HPLC 供试液的简便样品前处理方法。该方法避免了采用有可能使待测成分造成损失的提取和浓缩操作, 简化了供试液制备的繁琐步骤。试验表明本法不但具有不损害色谱系统, 及能使样品中的淫羊藿甙与其它成分实现基线分离的满意结果, 而且具有简便、高效、分析结果准确可靠的优点。

1 仪器和试剂

美国 SSI 公司 IV 型高压泵和色谱工作站, 美国 Waters 公司 490E 检测器, 7725i 进样阀(配 20 μ l 定量环); 淫羊藿甙对照品由中国药品生物制品检定所提供, 甲醇为色谱纯试剂, 市售安神补脑液 3 批。

2 色谱条件

ODS-2 柱(250mm×4.6mm i. d., 5 μ m), 柱温 30 $^{\circ}$ C, 流速 1ml/min, 检测波长 270nm, 检测器灵敏度 A_{ufs} = 0.2; 流动相: 甲醇-水 (600: 400, v/v)。淫羊藿甙的理论塔板数 *N* 大于 6000。

3 方法与结果

3.1 对照品贮备液的配制 精密称取淫羊藿甙对照品 33.6mg, 置 100ml 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 0.336mg/ml 对照品贮备液。

3.2 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备液各适量并稀释, 制成浓度分别为 0.00336、0.00840、0.0168、0.0336、0.0504、0.0672 和 0.0840mg/ml 的对照品溶液, 分别进样。绘制峰面积值 *A* 与进样浓度 *C* (mg/ml) 的关系曲线, 得线性方程为: $A = 1.83280 \times 10^8 C - 2.9031 \times 10^4$, 相关系数 $r = 0.99995$ 。可知进样浓度在 0.00336 ~ 0.0840mg/ml 范围内对照品峰面积响应值 *A* 与进样浓度 *C* 呈良好的线性关系。对照品的色谱图见图 1(1), 线性关系图见图 2。

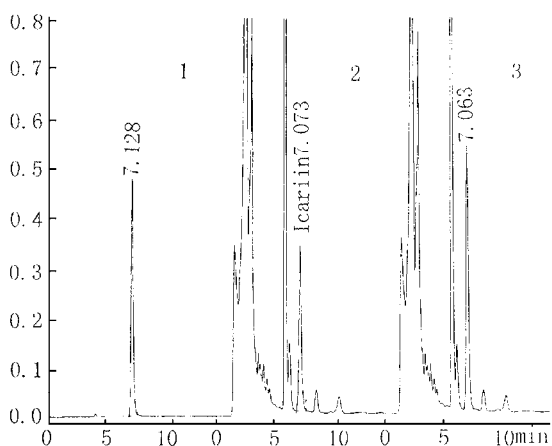


图 1 色谱图

(1) 淫羊藿甙对照品, (2) 样品, (3) 样品+淫羊藿甙对照品

3.3 精密度试验 量取浓度为 0.0336mg/ml 的对照品溶液重复进样 6 次, 测得峰面积值的平均值为 6164667, $RSD = 0.67\%$ 。

3.4 对照品溶液稳定性考察 浓度为 0.0336mg/ml 的对照品溶液配制后除当天测定外, 以后每天测定 1 次, 6 次测定结果的

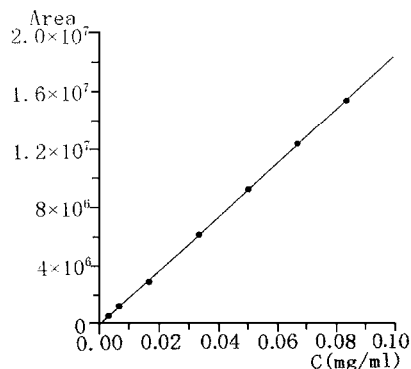


图 2 峰面积与进样浓度关系曲线

$RSD = 0.89\%$ ($n = 6$), 表明对照品溶液配制后在 5 天内保持稳定。

3.5 供试液的制备 精密量取供试品 10ml 置 20ml 量瓶中, 用

甲醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液转至具塞玻璃离心管中, 3500rpm 离心 10min, 取上清液进样。3 批样品每批各取 5 份平行测定, 结果见表 1。样品色谱图见图 1(2)。

表 1 样品测定结果($n = 5$)

样品批号	含量(mg/ml)	RSD (%)
970208	0.051	0.48
980614	0.102	0.93
980541	0.091	0.77

表 2 加样回收率试验结果($n = 5$)

样品中已知量 (mg)	对照品加入量 (mg)	实验测出总量 (mg)	回收率 (%)
0.510	0.336	0.848	100.6
0.510	0.336	0.839	97.9
0.510	0.336	0.850	101.2
0.510	0.336	0.842	98.8
0.510	0.336	0.844	99.4

3.6 加样回收率试验 精密量取批号 970208 的样品 10ml 置 20ml 量瓶中, 然后精密加入对照品贮备液 1ml, 再用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液转至具塞玻璃离心管中, 3500rpm 离心 10min, 取上清液进样。同批样品取样 5 份, 同法试验。回收率测定结果见表 2, 平均回收率为 99.6%, $RSD = 1.3\%$ 。

4 讨论

4.1 样品前处理方法 本品既含植物药又含动物药, 植物药中的鞣质和动物药中的某些蛋白质在含甲醇的介质中会析出。本品的

生产过程虽经醇沉处理,但当本品与甲醇以等体积混合并经离心处理后仍可发现有少量棕色沉淀物析出,进样前必须将这些物质除去。经上述处理所得的上清液再与甲醇以等体积混合并作离心处理,未发现再有沉淀物析出。本文确定的前处理方法省去了多次提取、浓缩的繁琐且有可能造成待测成分损失的操作。在试验全过程(持续时间两周,供试液累计进样约 120 次)柱压和柱效未见明显改变,可知本前处理法对色谱系统是安全的。

4.2 色谱条件的选择 为使色谱峰保留时间有较好的重现性并且使流动相的流速不致太低,在测定本品时使用了柱温箱。在本文确定的流速和柱温条件下,当流动相中甲醇与水的体积比为 600: 400 时淫羊藿甙色谱峰的色谱保留时间 $t_R = 7.073\text{min}$, 理论塔板数 $N = 6200$, 拖尾因子 $T = 1.05$, 与最近邻峰的分度度 $R \approx 2.4$; 当流动相中甲醇与水的体积比为 550: 450 时淫羊藿甙色谱峰的保留时间 $t_R = 11.637\text{min}$, 理论塔板数 $N = 7900$, 拖尾因子 $T = 1.06$, 与最近邻峰的分度度 $R \approx$

3.3. 为确保淫羊藿甙与其它物质能够完全分离,流动相中甲醇与水的体积比以不超过 600: 400 为合适。

5 小结

本法具有前处理操作简便,不损失待测成分和结果准确可靠的特点,可用于安神补脑液的质量控制。

参考文献:

- [1] 王亦农,李晓婷,施荣富,等. 龟鹿补肾液化学成分分析[J]. 中成药, 1996, 18(6): 14
- [2] 张清波,钱忠植. 春常在口服液质量标准研究[J]. 中成药, 1996, 18(3): 6
- [3] 王宜祥,傅剑飞. HPLC 测定延生护宝液中淫羊藿甙的含量[J]. 中成药, 1996, 18(5): 11
- [4] 栗晓黎,陈德昌,蒋俊芳. 复方蚂蚁颗粒剂质量标准的研究[J]. 中成药, 1997, 19(6): 9
- [5] 方华生,吴云高,王健生. 安神补脑液中淫羊藿甙的高效液相色谱法测定[J]. 中成药, 1996, 18(4): 13

(收稿日期: 1999-02-04)