

RP-HPLC 测定补肾宁片中淫羊藿甙的含量

谭生建 胡文祥 狄海涛 邵逊生 杨 宏(国防科工委药检所 北京 100101)

摘要 用反相高效液相色谱测定补肾宁片中淫羊藿甙含量。淫羊藿甙与其相邻峰的分离度是 1.8;理论板数按淫羊藿甙峰计算是 1697;对照品线性范围是 4.88~78.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$,回归方程 $Y=0.00007187x+2.124$, $r=0.9998$,平均回收率 99.4%, RSD 为 0.48。此法操作简便,结果准确。

关键词 反相高效液相色谱 补肾宁片 淫羊藿甙

Determination of Icariin in Bushenning Tablet by RP-HPLC

Tan Shengjian, Hu Wenxiang, Di Haitao, Shao Xunsheng, Yang Hong
(*Institute for Drug Control, Commission of Science Technology*
and Industry for National Defence, Beijing, 100101)

Abstract: A quantitative method was developed for the determination of icariin in Bushenning tablet by reversed phase HPLC. The number of theoretical plates calculated by Icariin peak was 1697, $R=1.8$. The standard curve was linear in the concentration range of 4.88~78.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and correlation coefficient was 0.9998. The average recovery and the relative standard deviation were 99.4% and 0.48%, respectively.

Key words: RP-HPLC, Bushenning tablet, icariin

补肾宁片由淫羊藿、羊鞭、枸杞子等 6 味中药材加工而成,收载于中华人民共和国卫生部药品标准(1992 年第 6 册)。功能温肾助阳,益气固本、用于肾阳虚衰所致阳痿,女性更年期综合症。研究表明,淫羊藿甙是其中的重要有效成分,有肯定的治疗作用^[1]。部颁标准中以性状、鉴别和检查评价补肾宁片的质量。曾有文献^[2,3]报道用色谱法测定淫羊藿甙的含量,但补肾宁片中淫羊藿甙含量测定方法未见报道。本试验研究了反相高效液相色谱测定补肾宁片中淫羊藿甙含量的方法,报道如下。

1 仪器与试药

日本岛津公司 LC-6A 液相色谱泵;SIL-6B 自动进样器;SPD-6AV 紫外-可见分光光度检测器;C-R 6A 色谱数据处理机;试验用药材购自北京药材公司并经本所鉴定,符合药典规定。淫羊藿甙对照品购自中国药品生物制品检定所;补肾宁片由本所制备;甲醇、乙醇均为优级纯。对照品贮备液为 78.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 淫羊藿甙乙醇溶液。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 LUNA C₁₈ 分析色谱柱 (4.6mmID $\times$ 250mm, 粒径 5 μm), 北京分析仪器厂 ODS 保护柱 (5mmID $\times$ 50mm, 粒径 5 μm), 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相甲醇-水 (62:38), 流速 0.6ml/min; 检测波长 270nm, 记录纸速 1mm/min。

2.2 可行性 量取对照品贮备液适量,加乙醇稀释成适当浓度,进样;按补肾宁片处方配比制备不含淫羊藿的阴性样品。取补肾宁片及其阴性样品适量,分别按样品测定方法提取,进样,绘制色谱图,结果见图 1~3。由图可知补肾宁片中其它成分对淫羊藿甙的含量测定没有影响。淫羊藿甙峰保留时间约为 20min;淫羊藿甙与其相邻峰的分度是 1.8;以淫羊藿甙峰计算理论板数为 1697。上述色谱条件可用于补肾宁片中淫羊藿甙的含量测定。

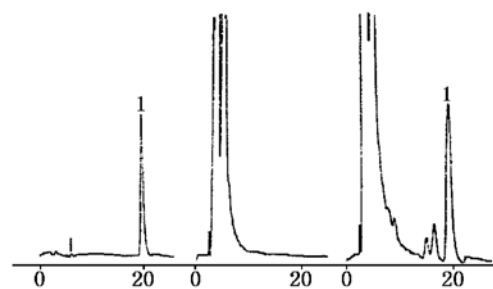


图 1 淫羊藿 图 2 补肾宁片 (淫羊藿) 阴性样品色谱图 图 3 补肾宁片色谱图
1 号峰为淫羊藿甙

2.3 线性关系 分别精密量取对照品储备液适量,用乙醇稀释成 5 个等比浓度 (4.88~78.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$),进样、记录色谱峰面积,淫羊藿甙峰面积均值 x 对进样浓度 Y ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 线性回归,得回归方程为: $Y = 0.00007187x + 2.124$, $r = 0.9998$ 。

2.4 仪器精密度和方法重复性 取 1 样品溶液置自动进样器中,5h 内重复进样 ($n = 5$), $RSD\%$ 是 1.9。按样品测定项下方法,对同 1 样品重复取样测定 ($n = 5$), $RSD\%$ 是 2.0。

2.5 提取条件 采用 70%乙醇为溶剂,水浴加热回流 15、30、60、90min 考察,以 90min 提取率为 100% 计算,回流 15min 的提取率约为 99.4%;回流 30min 和 60min 提取率分别是 98.8% 和 99.8%。确定水浴加热回流 30min 后测定。

2.6 加样回收 按样品测定项下方法,精密称取同 1 批补肾宁片 6 份。其中 5 份分别加入淫羊藿甙对照品,另外 1 份做空白。各份均依样品测定项下方法操作,计算平均回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

空白含量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	对照品加入 量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	测得总量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
7.503	48.76	55.75	98.95		
7.503	48.76	56.22	99.91		
7.503	48.76	55.94	99.34	99.4	0.49
7.503	48.76	56.28	100.0		
7.503	48.76	55.80	99.05		

2.7 样品测定 取补肾宁片 20 片,精密称

定,研细。取其细粉适量(约相当淫羊藿 0.64g),精密称定。置 100ml 磨口三角瓶中,加 70%乙醇 40ml,水浴加热回流提取 30min,滤入 50ml 量瓶中。滤渣用约 10ml 乙醇洗滤 3 次,洗滤液并入量瓶中。放冷至室温,加 70%乙醇至刻度,摇匀。取少量用微孔滤膜($0.45\mu\text{m}$)滤过,进样 $10\mu\text{l}$,记录淫羊藿甙色谱峰面积,外标法计算含量。测定了 3 批样品,结果淫羊藿甙含量分别是 0.4814、0.3752、0.4086mg/片。

3 讨论

3.1 经稳定性试验观察,样品液在试验温度下(22°C)置棕色量瓶中,至少在 5d 内稳定。

3.2 淫羊藿甙在无水乙醇中不溶,在甲醇和 70%乙醇中溶解,考虑到甲醇的毒性较大,选用 70%乙醇做溶剂。

参考文献

- 1 阴建,郭力弓. 中药现代研究与临床应用. 第一卷. 北京:学苑出版社,1995. 648
- 2 原雪梅,于翔龙,徐晓,等. 还春口服液质量标准的实验研究. 中医药学报,1995,12(6):30
- 3 卞慕唐. 反相高效液相色谱法测定古汉养生精中淫羊藿甙. 中草药,1993(1):22

(收稿:1998-02-17)