

HPLC 法测定补肾益骨膏中淫羊藿甙的含量

杨 柳 邓远辉(广东省中医院 广州 510120)

补肾益骨膏是由淫羊藿、熟地、杜仲等诸药组成的复方制剂。具有滋肾填髓、强腰健骨之功效。经多年临床应用,对绝经期骨质疏松有较好疗效。为有效控制其质量,我们选择淫羊藿中淫羊藿甙的含量作为指标,建立了补肾益骨膏中淫羊藿甙的 HPLC 测定法,其实验结果准确,重现性好。

1 仪器、试剂及样品

1.1 仪器 美国光谱物理公司 SP8800 高效液相色谱仪,SPC-200 紫外可见分光光度检测器,SP4270 型积分仪。

1.2 试剂及样品 四氢呋喃、冰醋酸、甲醇

均为分析纯。淫羊藿甙对照品,由中国药品生物制品检定所提供。补肾益骨膏由广东省中医院中心实验室提供。阴性样品均按样品方法制备。

1.3 样品的制备工艺

取药材加工成粗颗粒,加水浸泡,回流提取,煎液浓缩至一定浓度,除杂,加入辅料,继续浓缩至相对密度 1.30(25~30℃),分装即得。

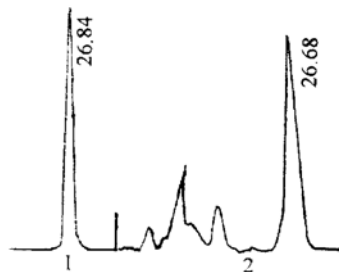


图 1 高效液相色谱图

1. 淫羊藿甙 2. 补肾益骨膏

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1] 色谱柱 ODS-C₁₈ 柱 4.6mm×250mm,流速 1ml/min,柱温室温,检测波长 270nm,流动相四氢呋喃-水-冰醋酸(20:75:2)。

2.2 供试品溶液的制备 取本品适量,以法制成干浸膏,精密称定重量。置烧杯中,加 5ml 70%乙醇溶解,超声提取 30min,用 0.45μm 微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。色谱图见图 1。

2.3 线性关系的测定 精密称取干燥至恒重的淫羊藿甙标准品 18.50mg,用 70%乙醇定容到 25ml,精密吸取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、4.0ml 分别置 10ml 量瓶中,用 70%乙醇稀释至刻度。在上述色谱条件下分别精密进样 10μl,以进样浓度(mg/ml)对峰面积计算,得回归方程为: $C = 4.1 \times 10^{-3} + 4.7 \times 10^{-8} \Delta a$, $r = 0.9998$ 。结果表明测定成分在 0.37~2.96μg 范围内线性关系良好。

2.4 空白对照溶液制备与测定 按处方比例及工艺自制不含淫羊藿甙的空白样品,按供试品溶液的制备方法配制、测定。结果表明处方中其他药材不干扰淫羊藿甙的测定。

2.5 精密度试验 精密吸取淫羊藿甙对照品溶液 10μl,按上述色谱条件重复进样 6 次,测得淫羊藿甙峰面积平均积分值 $\bar{x} = 3624823$,相对标准偏差 $RSD = 1.85\%$ 。

2.6 重现性试验 取同 1 批号样品 6 份,按前述方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10μl 进样,测定峰面积积分值,计算百分含量及相对标准偏差, $RSD = 1.31\%$ 。

2.7 回收率试验 精密称取已知淫羊藿甙含量的补肾益骨膏,分别加淫羊藿甙对照品溶液适量,按供试品测定项下方法测定,结果见表 1。

表 1 加样回收测定结果($n=3$)

样品中淫羊藿甙量(mg)	添加淫羊藿甙的量(mg)	测出淫羊藿甙的量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.1789	0.1680	0.3504	102.08		
0.1104	0.3360	0.4365	97.05		
0.1189	0.5040	0.6237	100.16	100.25	2.28
0.0078	0.6720	0.6911	101.68		

2.8 样品含量测定 取不同批号的供试品 5 批,按上述供试液制备方法操作,进样分析。结果见表 2。

表 2 补肾益骨膏中淫羊藿甙的含量($n=3$)

批号	960910	960922	961026	961120	961225
含量(%)	0.1730	0.1623	0.2630	0.1891	0.1932
RSD(%)	1.31	1.45	0.95	1.68	1.62

3 讨论

补肾益骨膏中淫羊藿甙的检测波长在 270nm 时基线稳定,分离度较好。

本实验建立的方法,只需将干浸膏超声提取,微孔滤膜过滤后即可进样检测分析,分离效果良好。实验证明,本法定量准确、快速,回收率及精密度都较好,可为补肾益骨膏的质量控制提供一个有效的检测手段。

参考文献

- 1 柴逸峰,李修禄. 用反相高效液相色谱法测定淫羊藿及其制剂中淫羊藿甙的含量研究. 药物分析杂志,1991,11(3):207~209

(收稿:1998-03-05)