

HPLC 法测定骨康口服液中淫羊藿苷的含量

涂兴明¹, 李赐恩², 吴康郁¹ (1. 广州中医药大学附属骨伤科医院药剂科, 广东 广州 510240; 2. 广州中医药大学第一附属医院药剂科, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定骨康口服液中淫羊藿苷的含量。方法 采用 HPLC 法测定淫羊藿苷的含量, Diamonsil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 为色谱柱, 流动相为乙腈-水(30 : 70), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 270 nm。结果 淫羊藿苷在 0.0521~0.2084 mg·mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系($r=1.0000$), 回收率为 99.61 % (RSD = 0.81 %, $n=9$)。结论 本法简便、准确、灵敏度高, 重现性好, 可用于骨康口服液中淫羊藿有效成分淫羊藿苷的含量测定。

关键词: 骨康口服液; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)06-0613-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.06.022

Determination of Icaritin in Gukang Oral Liquid by HPLC

TU Xingming¹, LI Ci'en², WU Kangyu¹ (1. Pharmacy Department, the Affiliated Orthopedics and Traumatology Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510240 Guangdong, China; 2. Pharmacy Department, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a quantitative method for icaritin in *Gukang* oral liquid by HPLC. **Methods** HPLC was performed on Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-water (30 : 70) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the UV detection wavelength was 270 nm. **Results** The linear range of icaritin was in the range of 0.0521 ~0.2084 mg·mL⁻¹ ($r=1.0000$). The average recovery of icaritin was 99.61 % with RSD being 0.81 % ($n=9$). **Conclusion** The method is simple, efficient and accurate, and can be used for the quality control of icaritin in *Gukang* oral liquid.

Keywords: *Gukang* oral liquid; Icaritin; HPLC; Content determination

骨康口服液是根据名中医刘庆思教授的经验方研制而成的中成药制剂, 具有补肾壮骨、益气健脾、养血活血之功效, 主要用于治疗骨质疏松症以及男、女更年期综合症等, 该制剂对骨折的后期恢复以及各种老年骨病均具有良好的临床疗效, 并且具有一定的抗衰老作用。骨康口服液由补肾健脾活血类中药补骨脂、淫羊藿、白芍、当归等 10 余味中药组成。方中

以补肾助阳壮骨的补骨脂为君药, 性辛、苦、温, 归肾、脾经, 起温肾助阳、纳气止泻之功效; 淫羊藿为方中臣药, 性辛、甘、温, 归肝、肾经, 起补肾阳、强筋骨之用。淫羊藿苷是淫羊藿主要活性成分。目前, 已有的骨康口服液研究只对制剂中的补骨脂素、异补骨脂素进行了含量测定^[1], 为了进一步完善骨康口服液的标准, 更好地控制该制剂的质量, 本文采用

收稿日期: 2013-05-30

作者简介: 涂兴明, 男, 主任中药师, 主要从事中药学的临床与科研工作。Email: txmxizang@21cn.com。

基金项目: 广东省科技计划项目(2011B031700049)。

高效液相色谱法测定制剂中的淫羊藿苷含量。

1 仪器与试药

20A 型高效液相色谱仪, 日本 Shimadzu 公司; AB 265-S 型电子天平, 瑞士 Metler 公司; UV-2450 型紫外分光光度计, 日本 Shimadzu 公司; 淫羊藿苷对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号: 110737-200414; 骨康口服液, 广州中医药大学附属骨伤科医院制剂, 批号: 110107, 111020, 120301; 淫羊藿、补骨脂、肉苁蓉、熟地黄、白芍、黄芪、菟丝子、丹参、当归、大枣, 均购自广州市同健医药连锁有限公司, 经鉴定均为正品, 由本院药剂科制备。乙腈为色谱纯; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[2] 色谱柱: Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(30:70); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 270 nm; 柱温: 25℃; 进样量: 10 μL; 等度洗脱。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取淫羊藿苷对照品适量, 加 30% 甲醇制成每 1 mL 含 0.1042 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品 3 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取处方中除淫羊藿外的其余中药, 按骨康口服液的工艺制备不含淫羊藿的阴性对照制剂, 按照 2.2.2 项下的方法制备阴性对照溶液。

2.3 测定波长的选择 以淫羊藿苷对照品溶液在 200~500 nm 波长范围内扫描, 结果在波长为 270 nm 处有最大吸收, 故以 270 nm 作为淫羊藿苷的检测波长, 见图 1。

2.4 专属性试验 精密量取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液注入液相色谱仪中, 按照 2.1 项下色谱条件分别进样, 记录色谱图, 在与对照品色谱图主峰相同的保留时间上, 供试品溶液有对应峰显示, 阴性对照溶液无对应峰。结果表明, 阴性溶液对检测结果无干扰, 结果见图 2。

2.5 标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液 5.0,

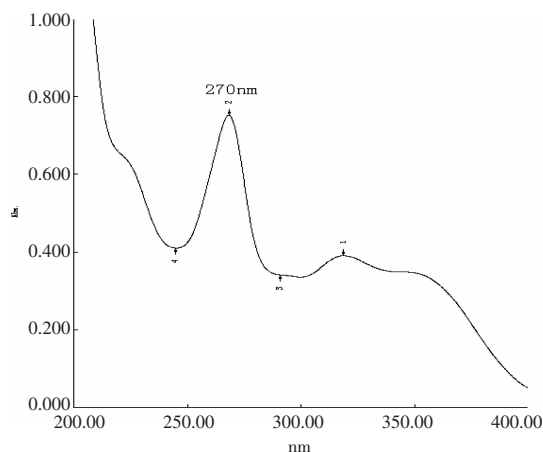
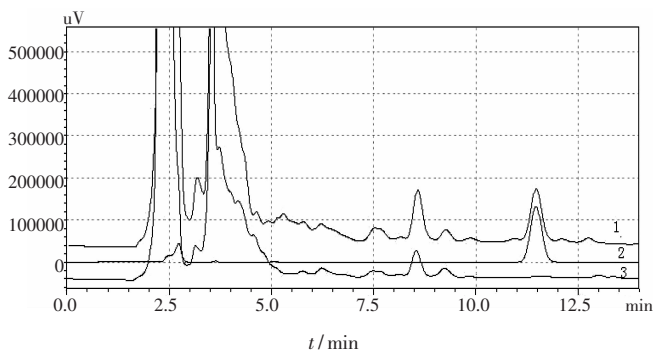


图 1 淫羊藿苷全波长扫描图

Figure 1 Full spectrum scan of icariin



1. 供试品溶液; 2. 对照品溶液; 3. 阴性对照溶液

图 2 专属性试验图谱

Figure 2 Chromatogram of specialization test

8.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL(0.1042 mg·mL⁻¹), 注入液相色谱仪中, 按照前述色谱条件进行测定, 以峰面积(Y)和进样量(X)进行回归, 得到回归方程为 $Y = 2.54 \times 10^6 X + 1.60 \times 10^4$ ($r = 1.0000$)。结果表明, 淫羊藿苷浓度在 0.0521 ~ 0.2084 mg·mL⁻¹ 时与峰面积呈良好线性关系, 见图 3。

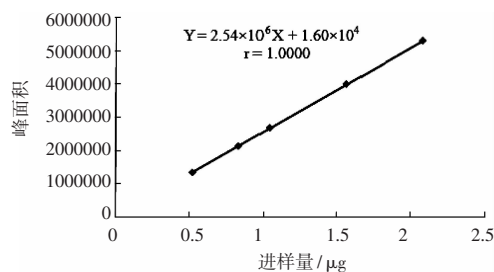


图 3 淫羊藿标准曲线图

Figure 3 Icariin standard curve

2.6 精密度试验 取同一对照品溶液进行试验, 每次进样 10 μL, 连续进样 6 次, 测定主峰面积, 淫羊藿

苷分别为 2634611, 2678912, 2610781, 2648552, 2637884, 2675664, RSD 为 0.98 %。结果表明, 仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样, 每次 10 μ L, 测定主峰面积, 淫羊藿苷分别为 2638185, 2533094, 2583428, 2605446, 2604393, 2636880, 2604134, RSD 为 1.5 %。结果表明, 该成分在 24 h 内稳定。

2.8 重现性试验 取同一批号样品 6 份, 按照 2.2.2 项下制备供试品溶液, 测定供试品溶液中淫羊藿苷的含量, 结果淫羊藿苷含量分别为 0.355, 0.346, 0.352, 0.359, 0.361, 0.359 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD 为 1.6 %, 表明重现性良好。

2.9 回收率试验 精密量取骨康口服液 1.5 mL(批号: 110107, 测定含量为 0.355 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 置于 10 mL 量瓶中, 共 9 份, 分别精密加入浓度为 0.1042 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的淫羊藿苷对照品贮备溶液 4, 5, 6 mL, 各 3 份, 按照 2.1 项下色谱条件进行测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 淫羊藿苷加样回收试验结果

Table 1 Results of recovery test for icariin

序号	样品量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.5325	0.4168	0.9522	100.70	99.61	0.81
2	0.5325	0.4168	0.9487	99.86		
3	0.5325	0.4168	0.9476	99.59		
4	0.5325	0.5210	1.0513	99.58		
5	0.5325	0.5210	1.0425	97.89		
6	0.5325	0.5210	1.0531	99.92		
7	0.5325	0.6252	1.1507	98.88		
8	0.5325	0.6252	1.1581	100.06		
9	0.5325	0.6252	1.1578	100.02		

2.10 含量测定 分别取骨康口服液 3 批, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 计算样品含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定

Table 2 Content determination of the samples

批号	平均含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$
110107	0.355
111020	0.332
120301	0.387

3 讨论

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是中、老年人, 尤其是绝经后妇女的一种常见病。随着我国逐渐步入老年化社会, 治疗与预防老年性疾病是当前医疗工作者亟需解决的问题。骨康口服液已有近 20 多年的使用经验, 临床证明对老年骨病, 尤其骨质疏松症具有明显的疗效^[3-6]。

淫羊藿虽为方中的臣药, 但其在方中用量较多, 起协助君药补骨脂补肾、滋阴、益精的作用, 在原有制剂质量标准的基础上, 建立淫羊藿苷的含量测定方法, 能较好的反映骨康口服液的内在质量。同时, 补充了该制剂目前仅检测补骨脂素、异补骨脂素的不足。

由于骨康口服液为液体制剂, 在供试品溶液的制备时根据液体制剂的性质, 采用甲醇稀释样品至一定浓度, 微孔滤膜过滤, 取续滤液的方法, 该方法操作简便、准确。经全波长扫描, 淫羊藿苷在 270 nm 吸收较大, 因此, 确定淫羊藿苷的检测波长为 270 nm。通过试验对流动相的比例进行研究, 确定了在乙腈-水(30:70)的条件下, 能较好地分离样品中主峰与杂质峰。本文采用的测定方法经方法学验证, 表明该法简便易行, 结果准确, 重现性好, 可有效地控制该复方制剂的质量。

参考文献:

[1] 钟镜金, 黄晓其, 龙彦纲, 等. 高效液相色谱法测定骨康口服液中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 453-454.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 306.

[3] 万雷, 黄宏兴, 刘庆思. 十味骨康口服液治疗绝经后骨质疏松症 24 例[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(11): 1926-1927.

[4] 杜莹, 魏合伟, 陈超, 等. 骨康冲剂治疗绝经后骨质疏松症临床观察[J]. 中医正骨, 2005, 17(8): 17-18.

[5] 刘庆思, 李奋儒, 魏合伟, 等. 中医治疗骨质疏松症的原则及骨康方的应用[J]. 新中医, 2002, 34(8): 3-4.

[6] 杜莹, 谢杰, 魏合伟, 等. 应用补肾健脾活血治则防治骨质疏松症[J]. 中国临床康复, 2005, 35(9): 108-110.

(编辑: 宋威)