

肾宝合剂中淫羊藿苷含量测定方法的改进

赵陆华, 刘艳华, 张 同, 徐继华

(中国药科大学分析中心, 南京 210009)

摘 要 目的: 测定肾宝合剂中淫羊藿苷的方法改进。方法: 采用 HPLC 法, 以 Dikma Diamonsil ODS(250 × 4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 乙腈-水-冰醋酸 (30:70:1) 为流动相, 流速 1 ml/min, 检测波长 270 nm。结果: 淫羊藿苷的平均回收率为 97.79%, 重复性试验的 RSD 为 2.11%, 符合分析要求。结论: 采用 HPLC 法测定比汇仁制药标准用的 TLC 法简便、准确, 测得含量高。

关键词 肾宝合剂; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2001)05-0378-03

肾宝合剂是由淫羊藿、葫芦巴、金樱子和熟地黄等 22 味中药提取、精制而成, 具调和阴阳、温阳补肾、安神固精、扶正固本之功效。淫羊藿作为肾宝合剂的主药之一, 其所含活性成分淫羊藿苷可拮抗阳虚所致的体重减轻、肾上腺萎缩, 且对腺体有免疫激活作用^[1], 故淫羊藿苷的量可作为肾宝合剂质量控制指标。淫羊藿苷含量测定方法文献报道有 TLC-UV^[2]法, TLC-SC^[3]等, 汇仁制药生产标准中采用 TLC 法测定肾宝合剂中淫羊藿苷含量, 样品处理方法较繁琐, 本文采用 RP-HPLC 法测定, 提取方法较简便, 且重现性好, 建议可作为肾宝合剂中淫羊藿苷的质控方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪; 日本岛津 SPT-10A 检测器; 日本岛津 C-R6A 记录仪。

乙腈为色谱纯; 水为重蒸水; 淫羊藿苷对照品由中国药品生物制品检定所提供; 肾宝合剂批准文号: CZZ-4895 赣卫药准字(1996)第 134055 号由江西汇仁药业公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Dikma Diamonsil ODS (250 × 4.6 mm, 5 μm); **流动相:** 乙腈-水-冰醋酸 (30:70:1);

流速: 1 ml/min; **检测波长:** 270 nm; **柱温:** 室温; **进样量:** 20 μl; **外标法。**

2.2 供试品和对照品溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取淫羊藿苷对照品适量, 精密称定, 适量甲醇溶解, 用流动相制成浓度为 30 μg/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密吸取本品 2 ml, 置 10 ml 具塞离心管中, 加醋酸乙酯 4 ml, 涡旋 1 min, 静置 2 min 后取醋酸乙酯层于蒸发皿中, 重复提取 5 次, 合并提取液, 置蒸发皿中, 水浴上蒸干, 残渣用甲醇溶解并定量转移至 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 备用。

2.2.3 测定方法 精密吸取上述供试品与对照品溶液各 20 μl, 分别注入高效液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 以外标法计算样品的含量。

2.3 线性试验

精密称取淫羊藿苷对照品适量, 配制成浓度为 100 μg/ml 的贮备液。分别精密吸取贮备液 1.0, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 ml 分置 6 个 10 ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 混匀, 分别进样 20 μl, 以浓度的色谱峰面积进行回归统计, 结果如下:

$$Y = -2831 + 1.701 \times 10^4 X, r = 0.9992$$

X 为对照品的浓度; Y 为对照品的峰面积。

2.4 稳定性考察和精密度试验

按“2.2.2”项下操作, 制备一份样品溶液, 分别

在 0、2、4、6、8 h 进样, 测得淫羊藿苷浓度的 RSD 为 1.7%, 表明样品溶液在 8h 内稳定。精密吸取 20 μ l 注入高效液相色谱仪, 连续进样 6 次, 淫羊藿苷峰面积的 RSD 为 1.4%, 表明进样精密度良好。

2.5 重现性试验

取 6 份样品, 按“2.2.2”项下操作测定淫羊藿苷的含量, 其 RSD 为 2.11%, 表明重现性良好。

2.6 回收率试验

采用加样回收率测定方法, 取已知含量的样品 0.5 ml, 按高、中、低浓度分别加入定量的对照品溶液 1.2、1.0、0.8 ml, 按“2.2.2”项下操作, 甲醇定容至 10 ml, 制备成加样回收率供试液, 并依法测定, 结果见表 1。

Tab 1. The recovery test

No. (n= 3)	Added (μ g/ml)	Found (μ g/ml)	Recovery (%)	Average Recovery(%)	RSD (%)
1	13.81	13.41	97.10	97.79	2.01
2	17.26	16.60	96.18		
3	20.71	20.73	100.1		

由上表可见, 淫羊藿苷的平均回收率为 97.79%, 符合分析方法的要求。

2.7 含量测定

按“2.2.2”项下操作, 依法测定, 三批样品的测定结果分别为 172.4、179.1、198.5 μ g/ml($n= 3$), 对照品及供试品的色谱图见图 1。

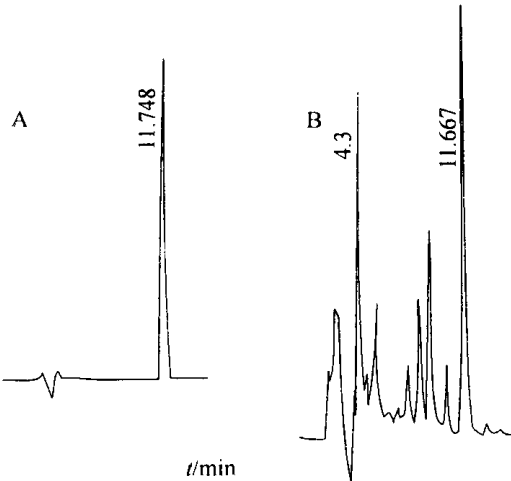


Fig 1. HPLC (A- standard; B- sample).
1. icariine

3 条件选择

3.1 醋酸乙酯萃取体积考察

按“2.2.2”项下操作, 提取液体积为(1).(4,4) ml; (2).(4,4,4) ml; (3).(4,4,4,4) ml; (4).(4,4,4,4,4) ml; (5).(4,4,4,4,4,4) ml, 结果表明: 乙酸乙酯萃取 4ml $\times$ 5 后, 基本萃取完全。

3.2 色谱柱的选择

色谱柱的选择, 考虑在分离良好的情况下分析时间尽可能短, 实验选用三种色谱柱进行比较, 当用汉邦 C₁₈柱(250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 虽能分离, 但峰比较宽; 用 Alltech C₁₈(150 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)柱时, 柱压较高; 用 DIKMA ODS(250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)柱, 分离良好, 保留时间 11 min, 所以选用 DIKMA ODS 柱分析。

4 讨论

1) 应用优化后方法制备样品, 用高效液相色谱法测定, 回收率、线性、精密度均符合中药分析要求, 且方法重现性好, 同时, 该法测定所得淫羊藿苷的含量比汇仁制药生产用标准中 TLC 法高出近 1 倍。汇仁制药生产用标准中 TLC 法测定规定淫羊藿苷的浓度不得低于 0.08 mg/ml[规格 150 ml, (1999) 第 045 号文所附标准], 而 HPLC 法测定浓度不得低于 0.170 mg/ml。

2) 为了确认色谱峰的纯度, 采用二极管阵列检测器对供试品的色谱峰进行检测。色谱峰从出峰到结束其光谱图的形状始终保持一致, 且与对照品的紫外扫描图谱一致, 表明杂质对测定没有干扰。

参 考 文 献

[1] 陈常松(Chen CS), 阎芳(Yan F). 淫羊藿的临床应用进展[J]. 中国药业(Chin Pharm), 2000(7): 60-62.
[2] 顾学梅(Gu XM). 抗骨增生丸中淫羊藿苷的含量测定[J]. 中成药(Chin Tradit Pat Med), 1999(4): 208-209.
[3] 龚青(Gong Q), 蔡新彪(Cai XB). 健肾宝口服液质量标准的研究[J]. 中国药事(Chin Pharm Aff), 97(5): 323-325.

Improvement of Determination of Icariin in Shenbao Mixture

ZHAO Lu-Hua, LIU Yan-Hua, ZHANG Tong

Center of Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

ABSTRACT **AIM** The purpose is to develop the analysis method of Icariin in Shenbao mixture;
METHODS A HPLC method was adopted .The measurement condition used are as follows: Dikma Diamonsil ODS column; mobile phase: acetonitrile-water-acetic acid glacial(30 70 1); flow rate 1.0ml/min; wavelength for measure 270 nm; The conditions of extraction and determination were optimized.
RESULT The relative standard deviation of the reproducibility was 2. 11% and the average recovery rate was 97. 79% . **CONCLUSION** The method was suitable for qualitative analysis of icariin in Shenbao mixture.
KEY WORDS Shenbao mixture; Icarüine; HPLC

• 新思路 •

药物经济学与新药研究开发

据报道全球最大 40 家以研究开发为基础的制药公司均设有药物经济学部门, 制药企业利用药物经济学参与新药开发的决策过程。

将经济学评价引入药品开发研究中, 赋予了药品开发新的涵义, 扩大了药品开发的范围。药品开发不仅指研制具有新的治疗作用、更强治疗效果或者较低毒副作用的新的化合物单体, 还可以从挖掘现有药物资源的利用率、降低治疗成本、提高治疗的效果-成本比值等方面寻找药物开发的方向。利用药物经济学的研究结果, 可以为这种广义的药物开发提供如下新的思路。

- 开发“治愈”药物
- 从经济学观点看, 具有治愈疾病效能的药物最为经济, 其成本-效果明显优于缓解症状的药物。因此, 研制开发具有治愈疾病功效的生物技术药剂已成为药品开发的热点。
- 开发方便剂型
- 现有的许多药物因剂型问题, 病人必须凭处方获得药品, 在医护人员监护下进行药物治疗。如果进行剂型改革, 研制开发出病人可以在家庭给药的剂型(口服制剂、透皮制剂、吸入剂等), 或比较安全的剂型(如控释制剂等), 可使许多处方药物转变成非处方药物, 有效降低常见病和慢性病

的治疗成本。另外, 通过药代动力学研究提高药物的生物利用度, 则可减少给药剂量, 减少或减轻药物不良反应的发生。

- 优化药物治疗方案
- 临床上有些药物治疗方案, 虽然在疗效、毒副作用方面效果卓著, 但治疗成本却居高不下。利用药物经济学研究结果, 改进原来的给药方案, 完全能够使之更加合理。
- 挖掘药物应用潜力
- 药物经济学研究结果直接影响到被开发药物的命运。新药一批准上市就会面临着定价和能否予以报销的问题, 立即需要药物经济学数据提供可靠的证据。在成本-效果比值等经济学参数不占优势的新药, 未来的市场竞争就少了一份重要的筹码, 甚至会因不能纳入国家医疗保险药品目录而极大地限制其应用范围。
- 药物经济学研究从全新的角度展现新药的优点, 如果研究结果提供的新药相对效益有助于证实新药的高价格是正当合理的, 则新药的继续开发就更有得到支持。否则就会失去追加投资, 在研的新药还有可能停止研究。

(源节录于《医药经济报》)