

中图分类号: R932; R284.1; R286.0
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.19.015

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2025)19-0080-04



高效液相色谱法测定强肾三金颗粒中淫羊藿苷含量*

易爱玲¹, 陈小莉², 易 嫚¹, 周从辉^{3,4△}

(1. 江汉大学附属黄陂区人民医院, 湖北 武汉 430300; 2. 武汉轻工大学化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430023; 3. 湖北省中医院, 湖北 武汉 430061; 4. 湖北中医药大学附属医院, 湖北 武汉 430061)

摘要:目的 建立测定强肾三金颗粒中淫羊藿苷含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Welch Ultimate XB - C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 水 (26:74, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 270 nm, 柱温为 26 °C, 进样量为 10 μL, 运行时间为 60 min。结果 淫羊藿苷的质量浓度在 10.76~215.23 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好 ($r=0.9998, n=6$); 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2% ($n=5$); 平均加样回收率为 98.20%, RSD 为 1.29% ($n=6$)。3 批淫羊藿苷平均含量为 0.5026 mg/g。结论 该方法操作简便、专属性强、结果准确, 可用于强肾三金颗粒中淫羊藿苷的含量测定。拟定该制剂中淫羊藿苷的含量应不少于 0.40 mg/g。

关键词: 强肾三金颗粒; 高效液相色谱法; 淫羊藿苷; 含量测定

Content Determination of Icaritin in Qiangshensanjin Granules by HPLC

YI Ailing¹, CHEN Xiaoli², YI Man¹, ZHOU Conghui^{3,4}

(1. Huangpi District People's Hospital Affiliated to Jianghan University, Wuhan, Hubei, China 430300; 2. School of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei, China 430023; 3. Hubei Traditional Chinese Medicine Hospital, Wuhan, Hubei, China 430061; 4. Affiliated Hospital of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, China 430061)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of icaritin in Qiangshensanjin Granules. **Methods** The chromatographic column was Welch Ultimate XB - C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - water (26:74, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection

*基金项目: 湖北省武汉市黄陂区科学技术局科学技术计划项目 [201502004]。

第一作者: 易爱玲, 女, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为医院药学、药物制剂与中药药理学, (电子信箱) 1052543089@qq.com。

△通信作者: 周从辉, 男, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为中药及其复方制剂, (电子信箱) jovea@126.com。

肃中医药大学, 2016。

- [2] 冯慧敏, 李 玥, 罗旭东, 等. 当归化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(4): 159-166.
- [3] 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, 2020: 139.
- [4] 高丽娜, 周长征, 刘青芝, 等. 远志皂苷类化合物及其药理作用研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2022, 36(3): 58-64.
- [5] 王 阳, 范潇晓, 杨 军, 等. 木香的萜类成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 5917-5928.
- [6] 郑加梅, 尚明越, 王嘉乐, 等. 木香的化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测[J]. 中草药, 2022, 53(13): 4198-4213.
- [7] 秦昆明, 杨 冰, 胡 静, 等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考[J]. 中草药, 2018, 49(3): 725-731.
- [8] 闫 艳, 杜晨晖. 一测多评法在中药质量控制中的应用及研究进展[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2022, 24(6): 2378-2387.
- [9] 刘燎原, 施文婷, 方朝缙, 等. 一测多评法同时测定小承气汤颗粒中 9 种成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(3): 335-341.
- [10] 方宝霞, 李 湘, 滚代芬, 等. 一测多评法应用于化学药及

中药的化学药成分质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(6): 1382-1388.

- [11] 薛艳丽, 姜朝晖, 薛小琦, 等. 一测多评法同时测定感冒舒颗粒中 10 个成分的含量[J]. 中药材, 2021, 44(11): 2636-2640.
- [12] 麻景梅, 麻朝朝, 高 乐, 等. 一测多评法用于茵栀黄传统汤剂 12 种成分含量测定的适用性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(6): 75-82.
- [13] 石莉尧, 房蕴歌, 陈两绵, 等. 以蟾酥制剂为例探讨一测多评法在中成药质量评价和控制中的应用研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(12): 2931-2941.
- [14] 匡艳辉, 王德勤, 徐科一, 等. 一测多评法测定白芍中 7 种成分的含量[J]. 中药材, 2020, 43(10): 2499-2503.
- [15] 周亚楠, 张元元, 白 洁, 等. 基于一测多评法定量的四季三黄片质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(2): 204-212.
- [16] 邹国栋, 康松松, 郭晓文, 等. 一测多评法同时测定蒙药制剂胡日查-6 丸中 5 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 1895-1901.
- [17] 李小阳, 翟小林, 王 丹, 等. 基于一测多评法的当归药材质量控制研究[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6354-6360.
- [18] 曹瑞竹. 木香顺气丸 HPLC 特征指纹图谱研究及多成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(6): 1127-1134.

(收稿日期: 2024-11-11; 修回日期: 2025-08-27)

wavelength was 270 nm, the column temperature was 26 °C, the injection volume was 10 μL, and the running time was 60 min.

Results The linear range of icariin was 10.76 – 215.23 μg / mL ($r = 0.999\ 8, n = 6$). The *RSDs* of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2% ($n = 5$). The average recovery rate of icariin was 98.20%, with an *RSD* of 1.29% ($n = 6$). The average content of icariin in three batches was 0.502 6 mg / g. **Conclusion** The method is simple, highly specific, and accurate, which can be used for the content determination of icariin in Qiangshensanjin Granules. The content of icariin in this preparation should not be lower than 0.40 mg / g.

Key words: Qiangshensanjin Granules; HPLC; icariin; content determination

据报道,勃起功能障碍(ED)的患病率随年龄的增长呈上升趋势,且患病人群日益年轻化,预计全球ED患者2025年将增至3.22亿人次^[1-2]。美国波士顿地区40~70岁男性的ED患病率为52%,亚洲地区男性的ED患病率为9%~73%^[3]。强肾三金颗粒由淫羊藿、西洋参、枸杞子、巴戟天、肉苁蓉、桑椹、川芎、锁阳等10味中药材组方,是江汉大学附属黄陂区人民医院临床应用30余年的有效经验方,用于治疗阳痿、早泄等性功能障碍。方中,淫羊藿为君药,具有温肾壮阳、固强筋骨、生精益血功效;肉苁蓉、巴戟天为臣药,协同君药强肾健骨,具有补肾益气、滋阴壮阳、强肾宁心功效。全方补肾壮阳、益精填髓,又不伤阴,配伍合理,组方科学^[4]。为全面评价强肾三金颗粒的质量,本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法测定了该制剂主要有效成分淫羊藿苷的含量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-16型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);KQ-500VDV型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为500 W,频率为45/80 kHz);PB203-E型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为1 mg);ELGA Purelab Flex 3型超纯水仪(英国Elga公司);DHG-905385-Ⅲ型电热恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司);HH-6型数显恒温水浴锅(金坛市易晨仪器制造有限公司)。

1.2 试药

淫羊藿苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110737-202017,含量为98.1%);强肾三金颗粒(批号分别为20230501,20230502,20230503),强肾三金颗粒淫羊藿阴性对照品(批号为20220626),均由华中科技大学附属同济医院药学部药理实验室自制;甲醇(批号为S62104ME02H),乙腈(批号为S62105AC01H),均为色谱纯,购自德国Merck KGaA公司;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果^[5-10]

2.1 色谱条件

色谱柱:Welch Ultimate XB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(26:74, V/V);流速:1.0 mL/min;

检测波长:270 nm;柱温:26 °C;进样量:10 μL;运行时间:60 min。

2.2 溶液制备

取淫羊藿苷对照品(60 °C干燥4 h)10.97 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得对照品贮备液;取1.4 mL,置10 mL容量瓶中,再加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为150.66 μg/mL的对照品溶液。取强肾三金颗粒10 g,研细,取细粉0.5 g,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,超声30 min,离心(转速为3 000 r/min)5 min,取上清液,0.22 μm微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。取强肾三金颗粒淫羊藿阴性对照品0.5 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察^[6,10-11]

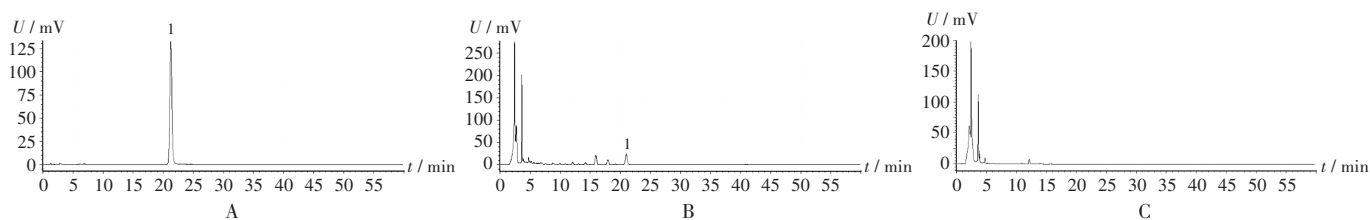
专属性试验:分别精密量取2.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。色谱图见图1。

线性关系考察^[10,12]:精密量取2.2项下对照品贮备液0.1,0.2,0.4,0.8,1.4,2.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释成质量浓度分别为10.76,21.52,43.05,86.09,150.66,215.23 μg/mL的系列溶液。精密量取上述溶液各10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,以峰面积(*Y*)为纵坐标、淫羊藿苷质量浓度(*X*, μg/mL)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 22\ 042\ X + 16\ 702$, $r = 0.999\ 8$ ($n = 6$)。结果表明,淫羊藿苷的质量浓度在10.76~215.23 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取线性关系考察项下质量浓度为150.66 μg/mL的对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件进样测定5次,记录峰面积。结果的*RSD*为0.42% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为20230501)细粉0.5 g,精密称定,平行5份,按2.2项下方法制备供试品,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果含量的*RSD*为0.05% ($n = 5$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(批号为20230501)细粉0.5 g,



1. 淫羊藿苷
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Icaritin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

精密称定,平行5份,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于室温放置0,2,4,8,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为0.28%($n=5$),表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

加样回收试验^[13]:取样品(批号为20230503)细粉0.25 mg,精密称定,平行6份,分别置10 mL容量瓶中。分别加入线性关系考察项下质量浓度为150.66 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液0.81 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
12.39	12.20	24.34	98.11	98.20	1.29
12.39	12.20	24.34	98.11		
12.39	12.20	24.24	97.29		
12.39	12.20	24.19	96.88		
12.39	12.20	24.56	99.92		
12.39	12.20	24.55	99.84		

2.4 样品含量测定

分别取3批(批号分别为20230501,20230502,20230503)样品细粉各适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量。结果含量分别为0.504 0,0.497 0,0.506 8 mg/g,平均为0.502 6 mg/g。

3 讨论

3.1 指标性成分选择

强肾三金颗粒方中,淫羊藿为君药,主要活性成分淫羊藿苷具有拟性激素样作用,可促使骨细胞增殖分化,抗衰老^[14-15],故选择其为定量指标。

3.2 检测波长选择

本研究中采用日立紫外分光光度计对淫羊藿苷对照品溶液、供试品溶液进行全波长扫描发现,二者均在270 nm波长处有较强吸收,故确定检测波长为270 nm^[16-17]。

3.3 流动相选择

通过查阅文献^[18-21],并结合2020年版《中国药典(一部)》中淫羊藿苷的含量测定方法,经多次试验,最终选择乙腈-水(26:74, V/V)为流动相。结果显示,该条件下的色谱峰峰形和分离效果均较好。

3.4 含量限度拟定

根据2020年版《中国药典(四部)》通则9101 分析方法验证指导原则要求,根据含量测定结果及大量配制的实际情况,以淫羊藿苷含量下浮20%作为淫羊藿苷的含量限度,建议强肾三金颗粒中的淫羊藿苷含量应不少于0.40 mg/g。

3.5 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、专属性强、结果准确,可用于强肾三金颗粒中淫羊藿苷的含量测定。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会泌尿外科专业委员会,浙江中西医结合学会泌尿外科专业委员会. 中西医结合诊疗勃起功能障碍专家共识[J]. 中国中西医结合外科杂志,2022,28(6):763-768.
- [2] 李重,柳志明,孙远,等. 基于网络药理学探究远志-郁金-沉香治疗勃起功能障碍的作用机制[J]. 天津医科大学学报,2024,30(6):497-502.
- [3] 中国中西医结合学会男科专业委员会. 勃起功能障碍中西医结合诊疗指南(试行版)[J]. 中华男科学杂志,2016,22(8):751-757.
- [4] 胡永恒,易爱玲,杜光,等. 强肾三金处方的研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版),2023,37(3):255-259.
- [5] 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,2020:340-342.
- [6] 易爱玲,邹福生,杜光,等. HPLC法测定复方金沙利胆颗粒中芍药苷的含量[J]. 中国临床药理学杂志,2016,32(5):452-454.
- [7] 白林,王超. 参龙健脑胶囊质量标准的研究[J]. 中国药物应用与监测,2012,9(1):22-25.
- [8] 郭冬,薛佩芸,穆庆丽,等. 淫羊藿配方颗粒制备工艺优化及一致性评价[J]. 中国药业,2020,29(11):38-41.
- [9] 吕文纲,王鹏程. HPLC法测定益肾生发颗粒中淫羊藿苷的