

HPLC法测定复方玄驹胶囊中淫羊藿苷的含量

杨炳川*, 杨浩然, 方应权, 周勇, 龙明#, 冉宏

(重庆三峡医药高等专科学校附属医院, 重庆 40400)

【摘要】 目的: 建立测定复方玄驹胶囊中淫羊藿苷含量的方法。 **方法:** 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Cosmosil C₁₈, 流动相为甲醇-磷酸水溶液 (55:45, V/V), 流速为 1.0mL/min, 检测波长为 270nm, 进样量为 20 μ L。 **结果:** 淫羊藿苷的质量浓度在 49.95~499.50 μ g/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系 ($r=0.9999$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 <2%; 平均加样回收率为 99.16%, RSD 为 1.43% ($n=6$)。 **结论:** 该方法简单、准确、重复性好, 可用于复方玄驹胶囊中淫羊藿苷的含量测定。

【关键词】 复方玄驹胶囊; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法; 含量测定

【中图分类号】 R927.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1001-0408 (2015) 09-1282-02

Content Determination of Icaritin in Compound Xuanju Capsules by HPLC

YANG Bing-chuan, YANG Hao-ran, FANG Ying-quan, ZHOU Yong, LONG Ming, RAN Hong
Affiliated Hospital of Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China

【Abstract】 Objective To establish a method for content determination of icaritin in Compound xuanju capsules. **Methods** HPLC was conducted. The column was Cosmosil C₁₈, the mobile phase was methanol-phosphoric acid (55:45, V/V) at a flow rate of 1.0mL/min and the detection wavelength was 270nm. The sampling volume was 20 μ L. **Results** There was a good linear relationship between the concentration of icaritin and peak area in the range of 49.95~499.50 μ g/mL ($r=0.9999$). The RSDs of precision, stability and repeatability were less than 2%. The average recovery was 99.16% (RSD=1.43%, $n=6$). **Conclusions** The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the content determination of icaritin in Compound xuanju capsules.

【keywords】 Compound xuanju capsules; Icaritin; HPLC; Content determination

复方玄驹胶囊由黑蚂蚁、淫羊藿、枸杞子、蛇床子等 4 种中药组成, 具有温肾、壮阳、益精之功效, 临床常用于治疗肾虚型患者, 症见神疲乏力、精神不振、腰膝酸软、少腹阴器发凉、精冷滑泄、肢冷尿频、性欲低下、功能性勃起功能障碍等^[1-2]。其中, 淫羊藿为方中君药, 而淫羊藿苷为淫羊藿的主要活性成分。为进一步控制复方玄驹胶囊的质量, 本研究建立了高效液相色谱 (HPLC) 法测定该药中淫羊藿苷含量的方法。

1 方法

1.1 仪器 1260 型 HPLC 仪, 包含二极管阵列检测器 (日本岛津公司); 旋转蒸发器 (金坛市华欧实验仪器厂); 减压干燥箱 (江

苏南京海汪制药机械装备有限公司); 分析天平 (上海市天平仪器厂); 超声波清洗器 (上海市声波仪器厂)。

1.2 药品与试剂 复方玄驹胶囊 (施强药业集团, 批号: 141001、141002、141003); 淫羊藿苷对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110737-200415); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Cosmosil C₁₈(250mm \times 4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (55:45, V/V); 流速: 1.0mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测波长: 270nm; 进样量: 20 μ L。色谱见图 1。

*副主任药师。研究方向: 天然药物成分的提取分离、中药开发。电话: 023-85736817

#通信作者: 主任医师。研究方向: 中药技术指导与品种鉴定。电话: 023-85736701

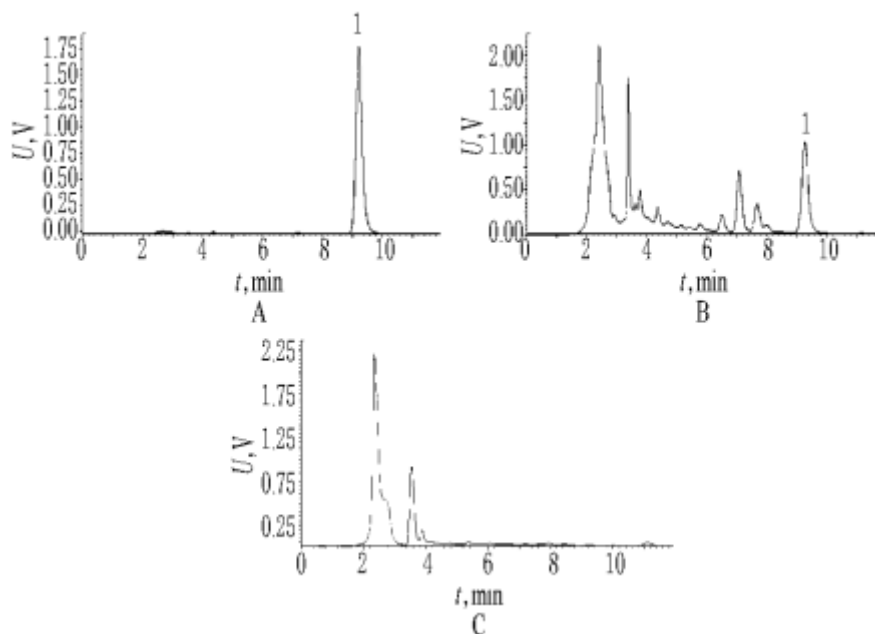


图 1 高效液相色谱图

A.对照品; B.供试品; C.阴性对照; 1.淫羊藿苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.Negative control; 1.icariin

2.2 溶液的配备

2.2.1 对照品溶液 精密取淫羊藿苷对照品 8mg, 置于 50mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀; 精密吸取 2mL, 置于 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 32 μ g/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取复方玄驹胶囊内容物适量, 研细, 精密称取 0.3g, 置于具塞锥形瓶中, 加乙醇适量, 称定质量, 置水浴锅上加热回流提取 30min, 放冷, 再次精密称定, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过; 精密量取续滤液 10mL, 蒸干溶剂, 残渣加水使溶解, 并转移至分液漏斗中, 用乙醚提取 3 次, 每次 20mL, 弃去乙醚液, 水层用醋酸乙酯-水饱和的正丁醇 (2:1, V/V) 的混合溶液振摇提取 5 次; 合并提取液, 蒸干溶剂, 残渣加甲醇使溶解, 并转移至 50mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μ m

微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 线性关系考察 取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇分别制成每 1mL 含淫羊藿苷 49.95、99.90、199.80、299.70、399.60、499.50 μ g 的对照品溶液, 分别按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积。以对照品的质量浓度 (x, mg/mL) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $y=54928x+40162$ ($r=0.9997$)。结果表明, 淫羊藿苷的质量浓度在 49.95~499.50 μ g/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.4 精密度试验 精密量取对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积。结果, $RSD=0.06\%$ ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 精密吸取对照品溶液适量, 分别于配制 0、2、4、6、8、12h 时按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积。结果,

RSD=1.6% (n=6), 表明供试品溶液在 12h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品约 1g, 共 6 份, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算样品含量。结果, RSD=1.8% (n=6), 表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批号各适量, 共 6 份, 分别精密加入淫羊藿苷对照品溶液各适量, 按“2.2.2”项下方

法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率, 结果见表 1。

2.8 样品含量测定 取 3 批次(批号: 141001、141002、141003)的样品各 1.0g, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进行进样测定, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果, 3 批样品的含量分别为 4.058、5.161、4.350mg/g, 平均含量为 4.523mg/g。

表 1 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.0918	0.082	0.1745	100.85		
0.0893	0.082	0.1699	98.29		
0.0931	0.082	0.1741	98.78	99.16	1.43
0.0899	0.082	0.1726	100.85		
0.0910	0.082	0.1721	98.90		
0.0922	0.082	0.1720	97.31		

3 讨论

目前, 文献报道中关于淫羊藿苷的含量检测方法有紫外风光光度法、导数光谱法、室温磷光法、薄层扫描法、高效液相色谱法、毛细管胶束电动色谱法等^[3], 但最为常见的为 HPLC 法。淫羊藿苷具有可溶解于乙醇、乙酸乙酯的性质。在实验中, 笔者曾尝试使用 30%、50%、70% 的乙醇分别回流提取 2 次、3 次、4 次, 并进行含量比较。结果显示, 70% 的乙醇提取效率最高, 且醇提 3 次和 4 次的淫羊藿苷含量明显较醇提 2 次高, 但醇提 3 次和 4 次之间淫羊藿苷含量无明显差异, 因此选择 70% 乙醇回流醇提 3 次的工艺。

经全波长扫描, 淫羊藿苷在 270nm 波长处吸收较大, 结果与 2010 版《中国药典》

记载一致。因此, 确定淫羊藿苷的检测波长为 270nm。在流动相的选择上, 有文献报道乙腈-水有拖尾影响^[4-5], 笔者尝试使用甲醇-水、甲醇-0.1% 冰醋酸、乙腈-3.8% 冰醋酸 (28:72, V/V)、甲醇-磷酸水溶液 (55:45, V/V) 为流动相进行试验。结果发现, 甲醇-磷酸水溶液 (55:45, V/V) 出峰良好, 且分离度高, 阴性样品对测定无干扰, 淫羊藿苷的保留时间约为 9min, 保留时间、分离度及淫羊藿苷理论板数均符合要求。

综上所述, 本研究建立的含量测定方法简单易行、结果准确、重复性好, 可用于复方玄驹胶囊的质量控制。

参考文献

[1] 张讯, 梁季鸿, 梁世坤, 等. 复方玄驹胶囊联合他莫昔芬治疗特发性少精子症的临床研究[J]. 中华

男科学杂志, 2012,18(7):661.

[2]王欣, 苏晶石, 杨可为, 等. 复方玄驹胶囊治疗前列腺炎的疗效观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2011,21(10):2045.

[3]尹志峰, 刘敬闪, 张兰桐. 淫羊藿苷的含量测定方法[J]. 中国医院药学杂志, 2003,23(8):47.

[4]崔晓红, 袁志芳, 张兰桐. 益肾强身片中淫羊藿苷的含量测定[J]. 中国新药杂志, 2005,14(11):78.

[5]凌云. HPLC 法测定不同批号复方玄驹胶囊中淫羊藿苷的含量[J]. 亚太传统医药, 2014,10(19):23.