

高效液相色谱法测定复方二仙草胶囊中淫羊藿苷含量

刘娜 杨天鸣 赵兴红 盖静 王俊丽

(兰州军区联勤部药品仪器检验所,甘肃兰州 730050)

摘要:目的:建立 HPLC 测定复方二仙草胶囊中淫羊藿苷含量的方法。方法:Shim-pack VP-ODS C₁₈ 分析色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), Phenomenex ODS C₁₈ 保护柱(3 mm×4 mm)。流动相:乙腈-水(26:74), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm。结果:淫羊藿苷保留时间为 13.8 min。以峰面积 Y 对进样量 X(μg)线性回归,淫羊藿苷回归方程: $y=2\ 732.7x+12.860$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 0.1-1.5 μg。淫羊藿苷回收率为 102.16%, RSD 为 1.92%。结论:本方法操作简便,结果准确可靠,可用于复方二仙草胶囊中淫羊藿苷的含量测定。

关键词: HPLC; 复文二仙草胶囊; 淫羊藿苷; 含量测定

中图分类号: S853.74 文献标识码: A 文章编号: 1000-6354(2011)05-0028-03

28

实验技术

复方二仙草胶囊是由淫羊藿、黄柏、仙茅、当归等 10 味中药组成的中药复方制剂,具有调节阴阳、壮骨止痛之功效,主治骨质增生症、老年性骨质疏松症引起的周身关节肌肉疼痛、麻木、拘挛、活动不灵及性功能低下(如性冷淡、阳痿、早泄)等。方中淫羊藿为君药,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效;其中黄酮类化合物淫羊藿苷为其主要

有效成分。为有效控制该制剂的质量,笔者等采用高效液相色谱法测定制剂中淫羊藿苷的含量,该方法简便、重现性好,可作为该制剂的质量控制标准。

1 仪器与试剂

Agilent-1100 高效液相色谱仪,含在线脱气机、四元泵、智能柱温箱、自动进样器、可变波长检测器、化学工作站(美国安捷伦公司);梅特勒-脱利多 AB135-S 和 AE100 电子分析天平(瑞士梅特勒公司);KQ5200DE 智能超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。复方二仙草胶囊(第四军医大学西京医院药剂科研制,批号:080502、081002、

收稿日期: 2011-05-04

基金项目: 兰州军区医药科技项目

作者简介: 刘娜(1982-),女,药师,研究方向:药物分析, Tel: 15117201251, (0931)976093, E-mail: sna831@163.com

Determination on the contents of pachymanin in *Poria cocos* (Schw.) Wolf

LI Zhen-kun

(Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The colorimetric method of phenol and sulfuric acid was used to determine the content of pachyman in *Poria cocos* (Schw.) Wolf in different habitat. The results showed that the optimal determination conditions for pachyman were as follows: wavelength was 490 nm; the reaction should last for 30 min at 45 °C with 1.5 mL of 5% phenol and 7.0 mL of sulfuric acid. Under these conditions, the content of pachyman in *Poria cocos* (Schw.) Wolf was 55%~87%.

Key words: colorimetric method of phenol and sulfuric acid; pachyman; content determination

090601,规格:0.30 g/粒)。淫羊藿苷对照品(中国药品生物制品检定所)。乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Shim-pack VP-ODC C₁₈ 分析色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); Phenomenex ODS C₁₈ 保护柱(3 mm×4 mm); 流动相:水-乙腈=74:26; 检测波长:270 nm; 流速:1.0 mL/min; 柱温:30 ℃; 进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含淫羊藿苷0.1 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品内容物适量,研细。取细粉2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇50 mL,密塞,称定重量,超声处理60 min,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 取阴性样品(原处方缺淫羊藿)约2 g,按供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。

2.3 系统适用性试验

上述色谱条件下测得对照品溶液、阴性对照品溶液、供试品溶液色谱图见图1。由图1可见,淫羊藿苷保留时间约为13.8 min。阴性对照品色谱在与对照品色谱相同位置无干扰。理论塔板数以淫羊藿苷峰计算应不低于5 000。

2.4 线性关系考察

精密吸取对照品溶液1、3、5、8、12 μL,注入色谱仪,按2.1色谱条件测定峰面积,以峰面积(A)对对照品溶液进样量(μg)进行线性回归,其标准曲线回归方程 $y=2\ 732.7x+12.860$, $r=1.000\ 0$ 。结果表明淫羊藿苷对照品在0.1-1.5 μg范围线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液10 μL,在同一色谱条件下,重复进样6次。结果表明,分析精密度良好,RSD为0.91%。

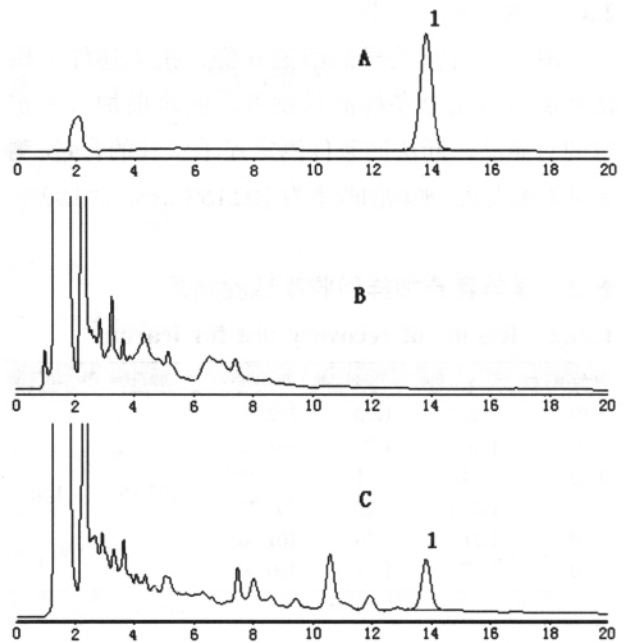


图1 高效液相色谱图

Fig.1 HPLC of all samples

注:A对照品溶液;B阴性对照品溶液;C供试品溶液;1淫羊藿苷。

Notes: A. reference solution; B. negative reference solution; C. test solution; 1. icariin.

2.6 稳定性试验

按供试品溶液制备方法制备样品供试液,分别于0、2、6、10、12 h精密进样10 μL,测定其峰面积。结果表明,供试品溶液在室温放置12 h内稳定,RSD为2.00%。

2.7 重复性试验

按拟定的含量测定方法,取同一批号样品(批号:090601)约2 g,共5份,按供试品溶液的制备方法制备样品供试液,进行含量测定。结果见表1。淫羊藿苷含量为1.03 mg/g,RSD为0.45%,分析重复性良好。

表1 淫羊藿苷的重复性试验结果

Tab.1 Results of repeatability test for icariin

取样量/g	淫羊藿苷含量/mg·g ⁻¹	平均含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
2.000 1	1.04		
1.999 7	1.03		
1.999 9	1.03	1.03	0.45
1.999 8	1.03		
2.000 2	1.03		

2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品溶液 6 份,按上述样品供试液制备方法制备样品供试液,测定前加入一定量的对照品,同法同条件测定淫羊藿苷的含量,测定结果见表 2。平均回收率为 102.16% *RSD* 为 1.92%。

表 2 淫羊藿苷加样回收率试验结果

Tab.2 Results of recovery test for icariin

样品量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
1.04	1.20	1.23	102.50	102.16	1.92
1.03	1.20	1.22	101.72		
1.03	1.24	1.31	105.89		
1.03	1.21	1.23	101.23		
1.03	1.21	1.23	101.30		
1.03	1.17	1.17	100.30		

2.9 样品含量测定

取 3 批样品制成供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果(*n*=3)

Tab3 Content determination of icariin in compound *Erxiancao* capsule

批号	淫羊藿苷含量/mg·g ⁻¹
080502	1.25
081002	1.39
090601	1.16

3 讨论

处方中淫羊藿为君药,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效;其中黄酮类化合物淫羊藿苷为主要的有效成分,可以作为复方二仙草胶囊的指标成分。

实验分别考察了甲醇、乙腈对淫羊藿苷保留行为的影响。结果表明,淫羊藿苷在乙腈-水流动相系统中峰形良好,且保留行为对有机相改变比较敏感。同时,考察了不同酸度和磷酸盐浓度对淫羊藿苷保留行为的影响。结果表明,淫羊藿苷保留行为不受盐浓度和酸度的影响。最后选定流动相为水-乙腈为 74:26,该条件下,样品峰形良好,杂质峰不干扰样品峰的测定。

本实验采用 HPLC 法测定复方二仙草胶囊中淫羊藿苷的含量,方法简便、准确、重现性好,可作为本品质量检验的一个定量方法,控制本品中淫羊藿苷的含量,能更好控制制剂质量,保证疗效。

参考文献:

- [1] 冉晓辉,王允,马才敬. HPLC 测定固骨缓释胶囊中淫羊藿苷的含量 [J]. 现代医药卫生, 2009, 25(1): 24.
- [2] 张薇,鄂立勋,阚鹏甲. HPLC 法测定补肾强身片中淫羊藿苷含量 [J]. 中国当代医药, 2009, 16(25): 38.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 27, 354.

Determination of icariin in compound *Erxiancao* capsule by HPLC

LIU Na, YANG Tian-ming, ZHAO Xing-hong, GE Jing, WANG Jun-li

(Institute for Drug and Instrument Control of Lanzhou Military Command, Lanzhou Gansu 730050, China)

Abstract: Aim: To develop a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantification of icariin in compound *Erxiancao* capsule. Methods: The chromatographic separation was performed on a Shim-pack VP-ODS C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm) and Phenomenex ODS C₁₈ security guard column (3 mm×4 mm) using acetonitrile-water (26:74) as mobile phase with a flow rate of 1.0 mL/min. The detection was carried out at 270 nm. Results: The retention time of icariin was 13.8 min. The regress equation for icariin was $y=2\ 732.7\ x+12.860$, $r=1.000\ 0$. The assay exhibited a linear range from 0.1 to 1.5 μg. The average recovery of icariin was 102.16% with *RSD* of 1.92%. Conclusion: The assay proved to be accurate, sensitive, selective and convenient. The fully validated method can be applied to study the quality control of compound *Erxiancao* capsule.

Key words: HPLC; compound *Erxiancao* capsule; icariin; determination