

高效液相色谱法测定强阳灵口服液中淫羊藿苷的含量

宋福坤¹, 赵勤² (1. 苏州市第二人民医院, 江苏 苏州 215002; 2. 苏州市药品检验所, 江苏 苏州 215002)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定强阳灵口服液中淫羊藿苷含量的方法。方法 采用 HPLC法, 在波长 284nm 以乙腈-水 (23:77) 为流动相, 测定淫羊藿苷的含量。结果 淫羊藿苷在 0.241~1.203 μ g 范围内呈良好线性关系 ($r=0.9995$) 平均回收率为 99.0% (RSD=1.0%, $n=5$)。测定 5 批样品的 RSD 为 0.5~0.9%。结论 所建立的方法可准确进行定量检测, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 强阳灵口服液; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917.792 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)03-0254-02

Determination of icariin in Qiangyangling oral liquids by HPLC

SONG Fu-kun¹, ZHAO Qin² (1. The Second Hospital of Suzhou, Suzhou 215002, China; 2. Suzhou Institute for Drug Control, Suzhou 215002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a HPLC method for determination of icariin in Qiangyangling oral liquids. **METHODS** The method was performed on VP-BDS column, acetonitrile-water (23:77) was used as mobile phase, the detection wavelength was 284nm. **RESULTS** The assay was linear over the range of 0.241~1.203 μ g, $r=0.9995$. The average recovery was 99.0%, with the RSD=1.0%. **CONCLUSION** The method developed is accurate, sensitive and repeatable. It can be applied to the quality control of Qiangyangling oral liquids.

KEY WORDS: Qiangyangling oral liquids; icariin; HPLC; determination

强阳灵口服液是我院自制制剂, 临床用于治疗阳痿、早泄、男子功能障碍的复方中药制剂, 经临床多年使用, 疗效确切, 强阳灵口服液由淫羊藿、狗脊、锁阳、陈皮、巴戟天、杜仲、鹿角片、五味子等 15 味中药经提取制成, 具有补肾壮阳功能。淫羊藿为该制剂处方的君药, 淫羊藿苷为淫羊藿的主要活性成分, 也是质量控制最常用的目标物, 为了有效地控制制剂质量, 本研究采用高效液相色谱法测定橙皮苷的含量淫羊藿^[1,2], 作为控制本制剂内在质量的指标。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SP8810 高效液相色谱仪, SP4270 积分仪, SP100 检测器 (美国光谱公司)。淫羊藿苷对照品: 由中国药品生物制品检定所提供, 批号 (0721-200111)。样品本院中药制剂室提供 (批号: 031011, 040208, 040526, 040810, 041120)。

甲醇、乙腈为色谱纯, 其它试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: VP-BDS (150mm*4.5mm)。柱温: 常温; 流动相: 乙腈-水 (23:77);

流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 270nm, 时间为 30min。

2.2 对照品溶液制备

精密称取淫羊藿苷对照品 4mg 置 50mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得每 1mL 含淫羊藿苷 80 μ g 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

取本品 5 支, 精密吸取本品 5mL 置 50mL 量瓶中加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心 (4000r/min) 30min, 取上清液, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 弃初滤液, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性液的制备

依照本品处方量及制备工艺制成不含淫羊藿苷药材的空白样品。按供试品溶液的制备方法制成阴性液。

测定方法: 精密吸取供试品溶液, 对照品溶液, 阴性液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪中, 记录液相色谱图, 在对照品色谱相应的位置上, 供试品溶液色谱图中具有相同保留时间的色谱峰, 阴性液在此峰位无吸收, 对本品淫羊藿苷含量测定无干扰。

2.5 线性范围试验

精密称取淫羊藿苷对照品 4.01mg 置 50mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得每 1mL 含淫羊藿苷 80.2 μ g 的溶液。分别精密吸取 3, 6, 9, 12, 15 μ L (0.241, 0.481, 0.722, 0.962, 1.203 μ g) 溶液, 注入高效液相色谱仪中, 测定色谱峰面积分别为 765361、1540718、2326077、3001436、3870795, 以峰面积 (A) 对浓度 (C) 进行回归分析, 得回归方程: $A=3189898.516C-1591.34879$, $r=0.9995$ 由测定结果得知, 淫羊藿苷在 0.241~1.203 μ g 范围内线性关系良好。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液, 精密吸取 5mL, 分别在 0, 2, 4, 6, 8h 测定, 结果为 RSD=0.37%。供试品溶液制备后 8h 内测定, 淫

羊藿苷含量无明显变化,在此时间内,被测组分化学性质稳定。

2.7 精密度试验

精密吸取 2.2 项下对照品溶液 10 μ L,重复进样 5 次,测定平均峰面积为 2694445, RSD 为 0.20%。

2.8 重复性试验

取强阳归口服液 5 份,每份 5 mL,按 2.3 项下供试品溶液方法制备,分别进样 10 μ L,计算测得淫羊藿苷平均值为: 0.5360 mg \cdot 支⁻¹, RSD = 0.86% ($n = 5$)。

2.9 回收率试验

采取加样回收法。精密吸取已知含量的本品 3 mL,共 5 份,精密加入淫羊藿苷对照品溶液 20 mL,按 2.3 项下供试品溶液制备方法制备,定容,测定,结果本法的平均回收率 99%, RSD 为 1.0%,结果见表 1。

表 1 回收率试验测定结果

Tab 1 The results of recovery test

编号	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	实测淫羊藿苷 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.6154	1.6164	3.2011	98.6		
2	1.6164	1.6064	3.2148	99.5		
3	1.6164	1.6064	3.1813	97.4	99.0	1.0
4	1.6164	1.6064	3.2225	100.0		
5	1.6164	1.6064	3.2145	99.5		

测定结果得知:本方程回收率在 97.4 ~ 100.0% 之间, RSD 为 1.0%,符合有关规定。

2.5 样品含量测定

取 5 批样品,分别按 2.3 项处理,进样 10 μ L,按上述色谱条件测定,以峰面积计算样品中淫羊藿苷的含量,结果见表 2。

表 2 样品淫羊藿苷测定结果

Tab 2 The results of sample determination

批号	样品含量 (mg \cdot ml ⁻¹)		平均值	RSD (%)
031011	(1) 0.5288	(2) 0.5347	0.5367	0.5
040208	(1) 0.5387	(2) 0.5346	0.5366	0.5
040529	(1) 0.5284	(2) 0.5221	0.5252	0.8
040810	(1) 0.4901	(2) 0.4963	0.4932	0.9
041120	(1) 0.5283	(2) 0.5220	0.5250	0.8

3 讨论

本实验以中国药典 2000 版中淫羊藿药材 HPLC 含量测定用流动相为基础并适当调整比例,实验证明,本文采用的流动相对淫羊藿苷可以达到基线分离,不受其他组分干扰,分离效果好,准确度高。

本试验根据淫羊藿的性质,以甲醇为溶剂,振摇提取,离心分离,能将样品中的淫羊藿苷基本提取完全,方法的重现性、稳定性、精密度、回收率试验均符合有关规定,可作为本制剂的定量分析方法。

参考文献

[1] 中国药典 2000 版(一部)[S], 2000: 267.

[2] 中华人民共和国卫生部标准:乳康片质量标准。