

高效液相色谱法测定无价保真制剂中淫羊藿苷的含量

李玲玲 (厦门市药品检验所,福建 厦门 361012)

摘要:目的 建立无价保真胶囊、口服液中淫羊藿苷的测定方法。方法 采用高效液相色谱法。Nucleosil C₁₈色谱柱,甲醇-水(60:40)为流动相,检测波长 270nm。结果 淫羊藿苷在 0.1~1.6μg 范围内具有良好的线性关系, $r=0.9999$; 胶囊剂的空白回收率、口服液的空白回收率分别为 100.56%、100.66% ($RSD=0.99\%$ 、 0.86% , $n=6$)。结论 该方法灵敏、准确,可用于无价保真制剂的质量控制。

关键词:无价保真制剂;高效液相色谱法;淫羊藿苷

中图分类号: R917.792.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)06-0486-03

Determination of icariin in Wujia Baozhen product by HPLC

LI Ling-ling (Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of icariin in Wujia Baozhen product. **METHODS** Column: ODS-C₁₈, phase: methanol/water (60:40), wave length 270nm. **RESULTS** The calibration curve was linear within the range of 0.1~1.6μg of icariin. The results showed that the blank recovery of capsule and liquid were 100.56% and 100.66% with RSD of 0.99% and 0.86%. Icariin was satisfactorily separated under the chromatographic condition. **CONCLUSION** The method is sensitive and accurate, and it can be used to control the quality of the Wujia Baozhen product.

KEY WORDS: Wujia Baozhen product; HPLC; icariin

无价保真制剂是由淫羊藿、石斛、肉苁蓉、茯苓等十几味中药材制成的中成药,剂型分为胶囊剂和口服液,具有温肾壮阳,益精补髓,固涩滋阴,益气养血,抗疲劳之功效。淫羊藿是方中君药,在处方中所占比例最大,淫羊藿含有多种黄酮类化合物,淫羊藿苷为淫羊藿有效成分的代表,选定淫羊藿苷为含量测定指标。文献报道淫羊藿苷的含量测定方法

有高效液相色谱法^[1]、大孔树脂-紫外法^[2]、薄层扫描法^[3]。本处方因是复方制剂,成分较多,高效液相色谱能有效分离组分,重现性好,故选用高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters 490 泵, 486 紫外检测器, 大连江申色谱工作站; 甲醇用色谱纯, 水用高纯水, 其余为 AR 级

试剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱:十八烷基键合硅胶 ODS柱 (Nucleosil), 4.6mm × 250mm;流动相:甲醇-水 (60:40);检测波长 270nm;柱温:室温;流量 0.7mL·min⁻¹。以淫羊藿苷峰计算,理论板数应不低于 1500。

2.2 线性试验

取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇配制成 0.05mg·mL⁻¹ 的对照品溶液,精密吸取对照品溶液 2, 8, 16, 24, 32μL按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵座标,淫羊藿苷量为横座标绘制标准曲线 $Y=7.0 \times 10^6 X + 3.0 \times 10^4$, $r=0.9999$,表明淫羊藿苷在 0.1~1.6μg 范围内具有良好的线性关系。

2.3 精密度与稳定性试验

精密吸取样品溶液,重复进样 8 次,淫羊藿苷峰面积积分值平均为 6543602, RSD为 0.8%。按上述色谱条件,每隔一定时间,精密吸取样品溶液 10μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,结果 48h 样品峰面积积分值重现性良好, RSD 为 1.4%。

2.4 专属性试验

按样品测定法,称取缺淫羊藿苷的阴性样品,依法处理,制备阴性样品溶液,进样,记录色谱图,结果在淫羊藿苷相应位置上,未呈现色谱峰。实验结果表明阴性溶液中的组分不干扰淫羊藿苷的测定。

2.5 重复性试验

取同一批口服液样品 8 份,分别依法提取制成供试品,进样分析,每份连续进样 3 次,测定峰面积,并计算含量,结果平均为 0.168% (g/mL), RSD为 1.6%。取同一批胶囊样品 8 份,分别依法提取制成供试品,进样分析,每份连续进样 3 次,测定峰面积,并计算含量,结果平均为 0.283% (g/mL), RSD为 1.3%。

2.6 回收率试验

①空白回收率试验:取除去欲测的淫羊藿药材后制成的口服液 10 mL或胶囊 1.0 g,精密加入一定量的淫羊藿苷对照品,依法测定,结果见表 1。

②加样回收率试验:取已被测定含量的样品,再精密加入一定量的淫羊藿苷对照品,依法测定,计算加样回收率,结果见表 2。

2.7 样品测定

2.7.1 对照品溶液的制备 取淫羊藿苷对照品约 2.5 mg,精密称定,置于 100mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。

2.7.2 口服液供试品溶液的制备 精密量取本品 10mL,置于分液漏斗中,加水 5mL,加入乙酸乙酯 (30, 20, 20, 20mL) 萃取,合并萃取液,于水浴上蒸干,加甲醇溶解,定量转移至 25mL量瓶中并稀释至刻度,精密吸取 5mL置 50mL量瓶中,加 70%乙醇稀释至刻度,作为供试品溶液。

表 1 空白回收试验结果 (n=3)

Tab 1 Results of blank recovery experiments (n=3)

剂型	加入量 (mg)	被测出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
口服液	10.05	10.021	99.71		
	10.17	10.212	100.41		
	9.89	9.876	99.86		
	10.11	10.179	100.68	100.66	0.86
	10.15	10.282	101.30		
胶囊	9.92	10.117	101.99		
	3.25	3.261	100.04		
	3.09	3.162	102.33		
	3.31	3.296	99.58	100.56	0.99
	3.12	3.089	99.01		
	3.21	3.219	100.28		
	3.02	3.067	101.56		

表 2 加样回收试验结果 (n=3)

Tab 2 Results of sample recovery experiments (n=3)

剂型	制剂中含量 (mg)	加入量 (mg)	被测出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
口服液	5.15	5.23	10.425	100.86		
	5.15	5.18	10.331	100.02		
	5.15	5.29	10.587	102.78	101.34	1.2
	5.15	5.11	10.282	100.43		
	5.15	5.32	10.617	102.76		
胶囊	5.15	5.28	10.492	101.17		
	1.523	1.508	3.039	100.53		
	1.541	1.513	3.067	100.86		
	1.519	1.502	3.016	99.67	100.67	0.61
	1.522	1.510	3.038	100.40		
	1.527	1.506	3.051	101.20		
	1.509	1.506	3.036	101.39		

2.7.3 胶囊剂供试品溶液的制备 精密称取本品约 1g,精密称定,置于三角锥瓶中,加入 70%乙醇 60mL,超声提取 60min,过滤,滤液置于 100mL量瓶中,用少许 70%乙醇洗涤残渣数次,洗液并入量瓶中,加 70%乙醇定容至刻度,作为供试品溶液。

2.7.4 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以外标法计算,即得。

表 3 样品测定结果 (%) (n=3)

Tab 3 Results of determination (n=3)

剂型	批号	淫羊藿苷含量	RSD%
口服液	61029	0.047	1.6
	61104	0.103	1.7
	70415	0.103	1.9
	70520	0.078	1.7
	70525	0.090	1.3
	70624	0.110	2.0
	70720	0.088	0.6
	70114	0.269	1.2
胶囊剂	70303	0.320	1.9
	70420	0.286	1.9

注:胶囊剂含量为 g/g, 口服液含量为 g/mL

Note: g/g for the content of capsule; g/ml for the content of liquid

3 讨论

淫羊藿苷易溶于甲醇、乙醇等极性溶剂,在乙酸乙酯中有较好的溶解性,口服液采用乙酸乙酯萃取,比较提取次数,优选提取 4 次,认为提取完全。胶囊剂采用 70%乙醇,比较提取次数和方法优选超声提取 60 min。

样品中淫羊藿苷含量差异较大,尤其口服液变化更大。经考察原料淫羊藿药材,发现不同采收季节,淫羊藿叶片老嫩程度不同,淫羊藿苷含量差异大,最大相差近 40 倍,使用优质原料投料是药品质量的保证,因实验批数不足,含量测定限度有待考察更多样品后确定。

参考文献

[1] SHA Z F, SUN W J. Determination of Icarin by HPLC [J]. Chi-

nese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志), 1988, 8(6): 341-342.

[2] ZHAO C X, YU H N, QI X *et al.* Determination of Icarin in Guzhi Zengsheng Zhitongye by Big bore resin-UV method [J]. Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 1996, 18(3): 14-16.

[3] NI J. Determination of Icarin in Fuchu Table by Re-HPLC [J]. Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 1994, 14(1): 11-12.

收稿日期: 2005-10-28