

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 404000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1282-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.47

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1.0 ml/min,检测波长为270 nm,进样量为20 μl。结果:淫羊藿苷的质量浓度在49.95~499.50 μg/ml范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.9999$);精密度、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

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 1.0 ml/min and the detection wavelength was 270 nm. The sampling volume was 20 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the concentration of icaritin and peak area in the range of 49.95-499.50 μg/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,临床常用于治疗肾阳虚型患者,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 材料

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(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(55:45, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30℃;检测波长:270 nm;进样量:20 μl。色谱见图1。

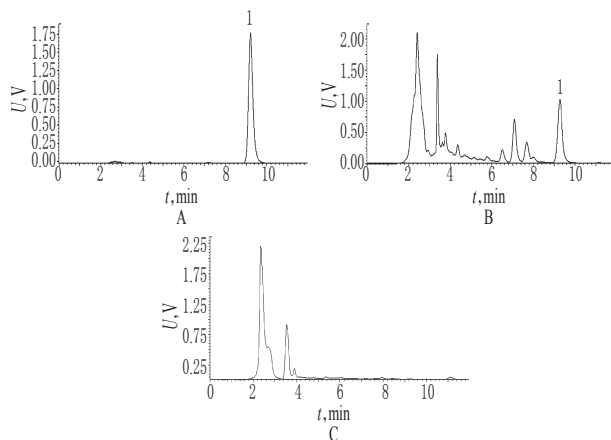


图1 高效液相色谱图

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. icaritin

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8 mg,置于50 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀;精密吸取2 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为32 μg/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0.3 g,置于具塞锥形瓶中,加乙醇适量,称定质量,置水浴上加热回流提取30 min,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10 ml,蒸干溶剂,残渣加水使溶解,并转移至分液漏斗中,用乙醚振荡提取3

* 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

次,每次20 ml,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50 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,经0.45 μm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1 ml含淫羊藿苷49.95、99.90、199.80、299.70、399.60、499.50 μg的对照品溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,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 $y=54\ 928x+40\ 162$ ($r=0.999\ 7$)。结果表明,淫羊藿苷的质量浓度在49.95~499.50 μg/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”项下色谱条件进样测定,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、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果, RSD=1.6% ($n=6$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取同一批样品约1 g,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”项下色谱条件进样测定,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样品各适量,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”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表1。

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,%
0.091 8	0.082	0.174 5	100.85		
0.089 3	0.082	0.169 9	98.29		
0.093 1	0.082	0.174 1	98.78	99.16	1.43
0.089 9	0.082	0.172 6	100.85		
0.091 0	0.082	0.172 1	98.90		
0.092 2	0.082	0.172 0	97.31		

2.8 样品含量测定

取3批次(批号:141001、141002、141003)的样品各1.0 g,

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、4.350 mg/g,平均含量为4.523 mg/g。

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分光光度法、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270 nm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270 nm。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9 min,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):2 045.
- [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.

(收稿日期:2014-12-12 修回日期:2015-02-02)

(编辑:孙冰)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅