

# HPLC法测定补肾防喘薄膜衣片中淫羊藿苷的含量

秦郁文\*,唐富丽(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,重庆涪陵 408000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)24-2290-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.24.28

**摘要** 目的:建立测定补肾防喘薄膜衣片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 Diamonsil™ C<sub>18</sub>柱,流动相为乙腈-水(30:70, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,检测波长为270 nm,进样量为10 μl。结果:淫羊藿苷进样量在0.049 9~0.998 0 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 0.83\%$ ;平均加样回收率为100.35%,RSD=0.69%( $n=9$ )。结论:该方法操作简单、专属性强、重复性好,能够有效控制该制剂的质量。

**关键词** 高效液相色谱法;补肾防喘薄膜衣片;淫羊藿苷;含量测定

## Determination of Icariin in Bushen Fangchuan Film-coating Tablets by HPLC

QIN Yu-wen, TANG Fu-li (Taiji Group Chongqing FuLing Pharmaceutical Company Limited, Chongqing Fuling 408000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish an HPLC method for the determination of icariin in Bushen Fangchuan Film-coating Tablets. METHODS: The chromatographic column was Diamonsil™ C<sub>18</sub> with acetonitrile-water(30:70, V/V) as mobile phase at the flow rate of 1.0 ml/min. Column temperature was 30 ℃. The detection wavelength was set at 270 nm and injection volume was 10 μl. RESULTS: The good linearity was obtained in the range of 0.049 9 μg-0.998 0 μg for icariin( $r=0.999\ 8$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than and equal to 0.83%. The average recovery was 100.35% (RSD=0.69%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple with strong specificity and good reproducibility, can control the quality of this preparation.

**KEY WORDS** HPLC; Bushen Fangchuan Film-coating Tablets; Icariin; Content determination

补肾防喘薄膜衣片由白附片、菟丝子(盐炙)、淫羊藿(羊油炙)、补骨脂(盐炙)、山药、地黄、熟地黄、陈皮8味中药组成<sup>[1]</sup>,具有温阳补肾之功效,用于预防和治疗支气管哮喘的季节性发作、慢性支气管炎咳嗽等。现代药理学研究<sup>[2]</sup>表明,淫羊藿能补肾阳、强筋骨、祛风湿,具有增强机体免疫功能的作用,是方中君药,其主要成分为淫羊藿苷。因此,为了更好地控制补肾防喘薄膜衣片的质量,保证其疗效,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法测定淫羊藿苷在该制剂中的含量,并对测定方法学进行了方法学研究。

## 1 材料

Agilent 1100型HPLC仪,包括G1311A四元泵、G1316A柱温箱、G1313A自动进样器、G1315B DAD检测器(美国安捷伦公司);KQ3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

补肾防喘薄膜衣片(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号:880701、880702、880703、880801、880802、880803);淫羊藿苷对照品(中国食品药品检定研究院,含量测定用,批号:110737-200414);乙腈(色谱纯,美国Fisher公司);其余试剂为分析纯,水为自制重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil™ C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(30:70, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测

波长:270 nm;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取淫羊藿苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含50 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取补肾防喘薄膜衣片细粉约0.8 g,精密称定,置于50 ml具塞锥形瓶中,精密加入80%乙醇20 ml,密塞,称定质量,超声(功率:150 W,频率:20 kHz)提取45 min,取出,放冷,用80%乙醇补足减失的质量,摇匀,上清液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 根据处方组成,取除淫羊藿外的其余药味,按制剂工艺制备,制得缺淫羊藿的阴性样品粉末,按“2.2.2”项下方法处理和制备,即得。

### 2.3 系统适用性试验

取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,色谱见图1。结果表明,在此色谱条件下,供试品淫羊藿苷峰与对照品峰位置保持一致,且与其他组分可以很好地分离,阴性对照不干扰淫羊藿苷的含量测定结果。

### 2.4 线性关系考察

精密称取淫羊藿苷对照品9.98 mg,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解,配制成质量浓度为0.099 8 mg/ml的对照品贮备溶液。分别精密吸取该对照品贮备溶液0.5、2.5、5.0、7.5、10 ml,分别置于5个10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀后按“2.1”项下色谱条件进样分析。以峰面积( $y$ )为纵坐标,进样量( $x, \mu\text{g}$ )为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=1\ 862.635\ 9x+14.795\ 2$ ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,淫羊藿苷进样量在0.049 9~

\* 副主任药师,硕士。研究方向:新药开发与质量标准。电话:023-72800283。E-mail:tjywqin@163.com

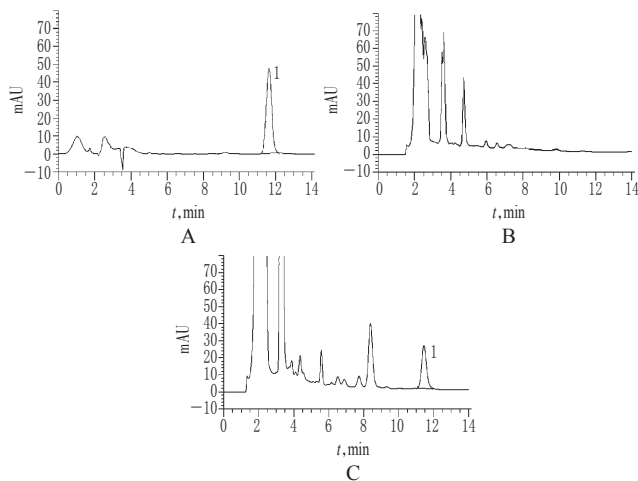


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 阴性对照; C. 供试品; 1. 淫羊藿苷

Fig 1 HPLC chromatography

A. substance control; B. negative sample; C. sample; 1. icariin

0.998 0  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,测定。结果,淫羊藿苷的RSD=0.36%,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下的供试品溶液质量,分别放置0、2、4、6、8 h后按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,淫羊藿苷的RSD=0.35%,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

取同一批(批号:880701)补肾防喘薄膜衣片样品适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,样品中含淫羊藿苷的量平均为767.77  $\mu\text{g/g}$ ,RSD=0.83%,表明本法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取9只具塞锥形瓶,分别加入淫羊藿苷对照品溶液(质量浓度为142.4  $\mu\text{g/ml}$ )1、1、1.5、1.5、1.5、2、2、2 ml,用热空气吹干,备用;取补肾防喘薄膜衣片(批号:880701,含淫羊藿苷的量为767.78  $\mu\text{g/g}$ )细粉约0.6 g,精密称定,依次加入上述锥形瓶中,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样分析,测定淫羊藿苷的含量并计算回收率,结果见表1。

### 2.9 样品含量测定

取上述6批样品适量,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样分析,测定样品中淫羊藿苷的含量,结果见表2。

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of icariin recovery test(n=9)

编号	所含量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得值, $\mu\text{g}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	467.04	142.4	609.44	100.00		
2	459.29	142.4	603.83	101.51		
3	462.51	142.4	604.12	99.44		
4	463.66	213.6	675.98	99.40		
5	460.36	213.6	676.25	101.07	100.35	0.69
6	460.21	213.6	674.86	100.49		
7	444.31	284.8	729.44	100.11		
8	458.59	284.8	745.04	100.58		
9	462.05	284.8	748.42	100.55		

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 content determination of sample(n=3)

批号	平均含淫羊藿苷的量, mg/g	批号	平均含淫羊藿苷的量, mg/g
880701	0.076	880801	0.088
880702	0.080	880802	0.083
880703	0.088	880803	0.085

取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇溶解,以甲醇为空白,在220~350 nm波长范围内扫描,结果在270 nm波长处有最大吸收,与文献<sup>[3]</sup>报道一致。且在270 nm波长处测定时分离度较好,基线稳定,响应值适中,所以选择270 nm为检测波长。

### 3.2 样品处理方法的选择

参考文献<sup>[4]</sup>样品处理方法,考察了不同体积分数提取溶剂(30%乙醇、50%乙醇、65%乙醇、80%乙醇、90%乙醇)、不同提取时间(30、45、60、90 min)、不同溶剂体积(15、20、30、50 ml)的差异。结果,采用20 ml 80%乙醇超声提取45 min,样品提取完全,杂质较少,适用于本品的检测。

### 3.3 色谱柱的选择

笔者曾对汉邦Lichrospher C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、安捷伦Zorbax SB C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )和迪马Diamonsil™ C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )等色谱柱进行了比较。结果发现,采用迪马Diamonsil™ C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )时,在选定的色谱条件下,主峰的保留时间较短,峰形较好,分离度符合规定。

综上所述,本方法操作简单、专属性强、重复性好,能够有效控制该制剂的质量。

## 参考文献

- [1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂: 第十二册[S]. WS3-B-2333-97, 1997: 72.
- [2] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 4 225-4 248.
- [3] 邓祖磊, 崔田. HPLC法测定金刚片中淫羊藿苷的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(48): 4 585.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 306, 1 156.

(收稿日期: 2012-10-23 修回日期: 2013-03-25)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊, 欢迎投稿、订阅