

HPLC法测定密骨胶囊中淫羊藿苷含量[△]

上海市中医药研究院骨伤科研究所 (200032)

史万忠*

上海医药工业研究院

朱 兰 孔德云**

上海中医药大学附属曙光医院

徐德生** 石印玉***

摘要 建立测定密骨胶囊中淫羊藿苷含量的方法。样品用甲醇超声提取 30 min,在 C₁₈柱上以甲醇-水-醋酸 (45: 50: 5)为流动相,在波长 270 nm处检测。淫羊藿苷含量测定的线性范围为 0.050 9~ 0.814 4 μg,线性回归方程为 $Y = 1\,479.437 + 455\,051.213X$, $r = 0.999\,9$,平均回收率为 98.95%,RSD为 2.44%。该法简便、准确、重现性好,可作为密骨胶囊质量控制的方法。

关键词 HPLC法 密骨胶囊 淫羊藿苷

Determination of Icaritin in Migu Capsule by HPLC

Institute of Traumatology and Orthopedy, Shanghai Academy of TCM (Shanghai 200032) Shi Wanzhong

Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Zhu Lan and Kong Deyun

Affiliated Shuguang Hospital, Shanghai University of TCM and Chinese Materia Medica Xu Desheng and Shi Yinyu

Abstract To develop a method for the determination of the contents of icaritin in Migu Capsule, a compound Chinese herbal preparation containing *Epimedium koreanum* Nakai for the treatment of osteoporosis, by RP-HPLC. The sample was shaken in an ultrasonic bath for 30 min. The contents were determined by HPLC, with column C₁₈ as stationary phase, methanol-water-acetic acid (45: 50: 5) as mobile phase and UV detector at 270 nm. The content of icaritin had a good linearity in the range of 0.050 9~ 0.811 44 μg, $Y = 1\,479.437 + 455\,051.213X$, $r = 0.999\,9$. The average recovery is 98.95% and RSD is 2.44% ($n = 5$). The method is rapid, reliable and simple, and can be used for the quality control of Migu Capsule.

Key words HPLC Migu Capsule icaritin

密骨胶囊为治疗原发性骨质疏松症的中药复方制剂,由首乌、淫羊藿、骨碎补等 7味中药组成,具有补肾益精、强筋壮骨的功效。淫羊藿有补肾作用,实验研究表明具有抗骨质疏松的活性^[1,2]。淫羊藿苷是淫羊藿中的主要有效成分,故选作含量测定指标。本文报道采用 HPLC法建立测定该胶囊中淫羊藿苷含量的方法。

1 材料与仪器

1.1 药品和试剂:密骨胶囊(批号:980921 980018 990118)由上海中医药大学附属曙光医院制剂室提供。

淫羊藿经鉴定为小檗科植物朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai的干燥地上部分,由上海市药材公司提供。

淫羊藿苷对照品由中国药品生物制品检定所提供。

甲醇为色谱纯,水为超纯水,醋酸为分析纯。

1.2 仪器: Waters 高效液相色谱仪(包括 510泵, 7725 i进样阀, Waters 484紫外检测器, CDM C-2A 数据处理机); SB2200超声波发生器(中美合资上海必能信超声有限公司, 80 W)。

2 方法和结果

2.1 色谱分析条件: 色谱柱: Nova-pak C₁₈ (3.9 mm× 150 mm, 4 μm), Nova-pak C₁₈ 预柱; 流动相为 甲醇-水-醋酸 (45: 50: 5), 使用前经减压抽滤脱气; 流速 0.7 mL/min; 检测波长 270 nm; 纸速为 2 mm/min; 保留时间约 15 min; 理论塔板数按淫羊藿苷计为 1 600; 数据处理定量方法为外标峰面积测定。

* Address: Shi Wanzhong, Institute of Traumatology and Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Shanghai

史万忠 男,助理研究员,1994年毕业于上海中医药大学,获学士学位。目前正在攻读硕士学位。主要从事骨质疏松症的基础研究及相关防治药物的研制开发。

** 指导老师 *** 项目负责人

△国家“九五”攻关资助项目 (No. 96-906-09-05)

法。

2.2 标准曲线制备:精密称取淫羊藿苷标准品 10.18 mg,置 50 mL容量瓶中,加甲醇溶解至刻度,摇匀(每 1 mL含淫羊藿苷 0.203 6 mg) 精密吸取 1 mL,置 10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀(每 1 mL含淫羊藿苷 0.020 36 mg),分别精密吸取 0.203 6 mg/mL的对照溶液 2.0, 2.5, 4.0 μ L和 0.020 36 mg/mL对照溶液 2.5, 5.0, 11 μ L,注入高效液相色谱仪中,以淫羊藿苷的量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为: $Y=147.9.437x-455.051.213X$, $r=0.9999$,线性范围为 0.050 9~0.814 4 μ g

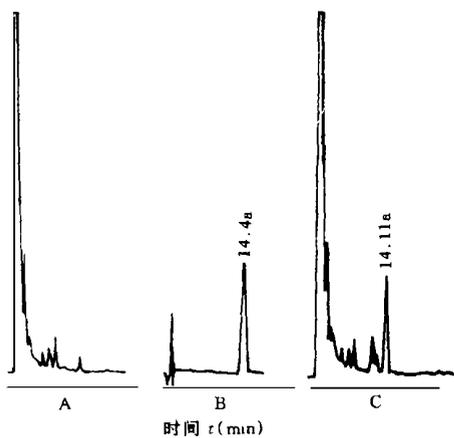
2.3 样品液制备:精密称取密骨胶囊药粉 0.15 g,置 25 mL容量瓶中,加甲醇近刻度,放入超声波发生器中提取 30 min,取出待冷至室温,再加甲醇至刻度,摇匀,滤取续滤液,即得样品液。

2.4 精密度试验:精密吸取对照品溶液,先后进样 5次,淫羊藿苷含量 $RSD=1.79\%$ ($n=5$)

2.5 重复性试验:同一批号样品 5份,按样品测试条件测定,淫羊藿苷含量的 RSD 为 2.02%。

2.6 稳定性试验:将同一样品液于 1, 2, 3 d测定,结果表明淫羊藿苷的 $RSD=3.86\%$ ($n=3$)

2.7 空白对照液制备与测定:按处方比例和工艺,制成不含淫羊藿的空白样品,按样品液的制备方法制备,测定 结果表明,处方中其他药材和辅料不干扰淫羊藿苷的测定,结果见图 1



A-空白 B-淫羊藿苷 C-样品 a-淫羊藿苷峰

图 1 高效液相色谱图

2.8 加样回收率测定:在已知含量的样品中分别加入不同量的淫羊藿苷对照品,配制成加样样品液。将加样样品液分别按上述色谱条件测定其含量,并计算加样回收率为 98.95%, $RSD=2.44\%$ ($n=5$)

2.9 样品测定:分别精密吸取对照品溶液和样品溶液,依上述色谱条件测定 3个批号样品,用外标峰面积法计算密骨胶囊中淫羊藿苷的含量,结果见表 1

表 1 样品测定数据

批号	淫羊藿苷含量 (mg/g)	RSD (%)
980921($n=4$)	2.43	2.91
981118($n=5$)	2.17	5.26
990118($n=5$)	2.04	4.27

3 讨论

3.1 流动相的选择:目前关于淫羊藿苷的 HPLC法测定报道较多,但密骨胶囊为中药复方制剂,成分复杂且有些成分与淫羊藿苷性质极相似,因此限制了文献方法的应用。我们在研究了不同比例甲醇、水和醋酸对分离结果影响的基础上,选择了本文报道的流动相。

淫羊藿苷是一种黄酮苷,因含有羟基而显酸性^[3],在分离淫羊藿苷的流动相中加入少量醋酸,可使淫羊藿苷的出峰时间延长,峰形更佳。这与文献报道相符^[4]。作者在本实验中使用加入 5%醋酸的流动相,同时减少对淫羊藿苷有较强洗脱能力的甲醇的用量,结果其出峰时间反而提前,见表 2。由此推测醋酸对淫羊藿苷的保留时间具有浓度信赖性的双向影响作用,即在低醋酸浓度时,淫羊藿苷的保留时间随醋酸浓度的增加而延长;在高醋酸浓度时,淫羊藿苷的保留时间反而缩短。该现象是否与其在流动相中形成的酸碱度和其对淫羊藿苷洗脱强度的偶联平衡有关,值得进一步研究。

表 2 不同比例的流动相对淫羊藿苷保留时间的影响

甲醇/水/醋酸	保留时间 (min)
55: 45: 0	8.00
55: 45: 0.3	10.19
50: 50: 0	25.30
45: 50: 0	14.36

3.2 提取时间的选择:采用本文提取方法测定同一样品,超声提取的时间分别为 30, 45, 60 min,结果含量基本相同。本文选用 30 min。

3.3 本方法不仅重现性好、精度高,而且采用样品直接超声提取,具有样品处理简单,操作方便的特点,可以作为控制质量的方法。

参考文献

- 李芳芳,等.全国代谢性骨病学术研讨会论文集.1998,11: 98
- 马中书,等.全国代谢性骨病学术研讨会论文集.1998,11: 131
- 梁生旺,等.中药制剂定量分析.北京:中国中医药出版社,1997: 199
- 叶丽卡,等.药物分析杂志,1998(18): 15

(1999-05-06收稿)