

固相萃取-高效液相色谱法测定肾宝合剂中淫羊藿苷的含量

★ 千剑钦 (江西金水康药业有限公司 南昌 330002)

★ 尹小英 (江西国药有限责任公司 南昌 330002)

关键词:固相萃取;肾宝合剂;高效液相色谱法;淫羊藿苷

中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

肾宝合剂主要由葫芦巴、金樱子、淫羊藿、熟地黄等 22 味药经提取、浓缩、精制而成,具有调和阴阳、温阳补肾、安神固精、扶正固本之功效。而其中主药淫羊藿具有增加心脑血管血流量、促进造血功能、提高免疫功能、抗肿瘤等功效^[1],其有效成分为淫羊藿苷,故可将淫羊藿苷的量作为评价肾宝合剂质量的定量指标。文献报道的肾宝合剂中淫羊藿苷的含量检测方法的主要有可见光 TLCS 法^[2]和液液萃取进行样品前处理的 HPLC 法^[3]等。淫羊藿苷的提取通常比较繁琐且易损失,使得含量测得结果比较低。本文则采用固相萃取法进行样品前处理,该法是集提取、富集、浓缩、净化为一体的新型技术,不引入损失待测成分的步骤,因而更真实地反映了淫羊藿苷的含量,且成本低廉。SPE-HPLC 法测定肾宝合剂中淫羊藿苷,具有操作简单、快捷、重现性好、结果准确等特点。

1 仪器与材料

Agilent 1100 series HPLC, Quatpump, VWD 紫外检测器, Hplchemstation 工作站, Agilent C₁₈ 微柱。

淫羊藿苷对照品 0737-9910 (中国药品生物制品检定所提供), 乙腈 (色谱纯试剂)。

肾宝合剂 3 批 0212019、0212020、0212021 (江西金水康药业有限公司提供)。

2 色谱条件

色谱柱 Shim-pack Vp-ODS (150 mm × 4.6 mm) (日本岛津公司生产), 流动相为乙腈-水 (27:73), 流速为 1 ml/min。检测波长 $\lambda = 270$ nm。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 精密称取对照品适量, 用 30% 的乙腈溶解并稀释, 配制成 0.1 mg/mL 的对照

品贮备液, 再精密称取适量贮备液配制成 30 μ g/mL 的对照品溶液。

3.2 供试品溶液的制备 微柱的活化: 将新开封的 Agilent C₁₈ 微柱, 依次用注射器注入 10 mL 甲醇、10 mL 蒸馏水和 10 mL 30% 乙腈, 然后用注射器注入空气数次, 尽量将细柱内的液滴驱除, 备用。供试品溶液的收集: 精密吸取本品 5 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加入 30% 乙腈适量, 加入 30% 乙腈溶解稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 2 mL 滤液于微柱容器中, 使滤液缓缓流过微柱, 流速为 1 滴/2s, 弃去流出液, 用 45% 乙腈洗脱, 收集 5 mL 流出液作为供试品溶液。

3.3 测定法 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μ L 进样, 测定, 以外标法计算含量。

3.4 线性关系考察 精密吸取对照品贮备液 1、2、3、4、5、6、7、8 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 30% 乙腈稀释至刻度, 分别进样 20 μ L, 测定峰面积响应值 Y 与进样量 X (μ g) 之间的关系, 得线性回归方程 $Y = 1767.7X + 150.31$, 相关系数为 $r = 0.9994$, 表明淫羊藿苷进样量在 0.2 ~ 1.6 μ g 时, 峰面积与进样量呈良好线性关系。

3.5 精密度试验 精密量取 20 μ L 对照品溶液进样, 重复进样 6 次, 6 次测定结果的 RSD 为 0.78%。

3.6 稳定性试验 对照品溶液配制后在室温下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、14 小时测定 8 次, 每次进样 20 μ L, $RSD = 1.8\%$, 表明对照品溶液配制后 14 小时内稳定。

3.7 重现性试验 取本品批号为 0212019, 按照供试品溶液的制备法制备供试品 5 份, 依测定法进行测定, 含量结果 RSD 为 1.2%。

3.8 回收率试验 精密吸取本品 (批号 0212019) 5

高效液相色谱法测定益肾胶囊中大黄素、大黄酚的含量

★ 郑耀东 (广东省汕头市皮肤性病防治院 汕头 515000)

关键词:益肾胶囊;大黄素、大黄酚;HPLC 法

中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

益肾胶囊由大黄、丹参、当归、苍术等药物组成,具有健脾益气利水、活血化瘀消肿、逐瘀清热解毒、泄浊的功效。为控制本品的内在质量,采用高效液相色谱法对其中所含大黄素与大黄酚进行了含量测定。

mL5 份,置于 50 mL 容量瓶中,分别精密加入对照品贮备液 10 mL,按供试液制备法处理样品,依测定法测定,测得平均回收率为 99.4%, $RSD = 1.76\%$ ($n = 5$)。

3.9 样品含量测定 取 3 批样品,按上述方法测定,结果见表 1。

表 1 样品测定结果

批号	淫羊藿苷含量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$
0212019	0.268
0212020	0.280
0212021	0.273

4 讨论

(1)中药复方制剂由于成分复杂多样,如何充分提取有效成分而排除其它成分的干扰一直是样品前处理的难点,传统的液液萃取方法存在许多弊端,如有机溶剂用量大、操作繁琐提取不完全等等,而固相萃取法这一新型技术则体现出更大的优越性,它可将样品中强保留物质除去,延长色谱柱的寿命,不破坏不损失待测成分,使检测更准确。

(2)江西汇仁药业制定的药典业发标准中淫羊藿苷含量测定需经反复多次萃取、上柱洗脱、蒸干溶剂,前处理十分费时费力,在操作过程中损失有效成分难以避免。本法操作简单,不引入损失待测成分的步骤,故测得含量结果远远高于药典业发标准(不少于 0.08 mg/mL),含量更准确。

(3)SPE 柱对于淫羊藿苷的吸附的考察:精密吸

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪,DAD 检测器,四元梯度泵,G2170AA 数据处理系统。

1.2 试药 甲醇为色谱纯试剂(一级),水为双蒸水,其它试剂均为分析纯。大黄素、大黄酚对照品

取本品 10 mL 于 25 mL 容量瓶中,加入 30% 乙腈溶解稀释至刻度,摇匀。将上述溶液以 1 滴/2s 流速缓缓注入微柱中,分别收集第 1 mL、第 2 mL 至第 12 mL 的滤出液,在上述色谱条件下,对淫羊藿苷的含量进行测定,从峰面积与滤出液的体积的关系可以看出前 3 mL 淫羊藿苷全部被吸附,以后吸附量在逐步增加,由于最初 3 mL 样品中的淫羊藿苷全部被吸附,故可以采用极性更低的洗脱剂将其充分洗脱再用于定量的方法,经多次的试验,结果表明采用 45% 的乙腈 5 mL 可以将吸附的淫羊藿苷完全洗脱,而采用更高浓度的乙腈虽然可以完全洗脱但峰形差。

(4)对淫羊藿苷对照品及供试品溶液的色谱峰进行停泵扫描,其紫外吸收光谱基本一致,表明该峰为纯净峰。

(5)采用 SPE 柱进行前处理比用有机溶剂如乙酸乙酯萃取^[3]得到的色谱峰峰形要好,且柱效要高。

参考文献

- [1]叶丽卡,陈济民.淫羊藿的药理研究进展[J].中国中药杂志,2001,26(5):293
- [2]彭新生,虞金宝,宋友昕.可见光 TLCS 法测定肾宝合剂中淫羊藿苷含量[J].中成药,2002,24(8):630
- [3]赵陆华,刘艳华,张同.肾宝合剂中淫羊藿苷含量测定方法的改进[J].中国药科大学学报,2001,22(5):378

(收稿日期:2004-05-21)