

3 讨论

3.1 检测波长的确定: 取柚皮苷对照品溶液及加流动相制成的对照品溶液(0.01 mg/mL), 在 200 ~ 400 nm 测紫外吸收光谱, 结果在 213、227、283、326 nm 处有吸收峰, 最大吸收波长为 213 nm, 227 nm 处次之, 再次为 283 nm; 由于 213 nm 和 227 nm 处于末端, 因此选择(283±1)nm 作为测定波长。

3.2 色谱条件的考察: 比较了甲醇-水-冰醋酸(40:60:0.5)、乙腈-水-醋酸(15:85:0.5)、乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(15:8)、乙腈-0.3%醋酸溶液(17:83)。结果发现本实验采用的流动相在相对弱酸条件下分离效果理想, 保留时间适中, 峰形较好。在色谱条件的试验选择中, 发现柱温对保留时

间影响较大, 柱温在 25 °C 适宜。

3.3 提取溶剂的选择: 分别采用 70%乙醇、甲醇、70%甲醇、50%甲醇作为提取溶剂, 结果发现用 50%甲醇和 70%甲醇测定的结果最高, 70%乙醇的测定值次之, 甲醇测定值最低; 故采用 70%甲醇为供试品溶液提取溶剂。由于本品中水溶性杂质较多, 用正丁醇对样品进行了处理, 以降低色谱柱的负荷; 同时考察了正丁醇的提取次数, 结果表明萃取 3 次即可提取完全。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 王跃生, 饶毅, 魏惠珍, 等. HPLC-“内标”多控法测定四逆散中芍药苷、柚皮苷、橙皮苷、甘草酸和新橙皮苷[J]. 中草药, 2008, 39(9): 1316-1319

HPLC 法测定前列舒乐颗粒中淫羊藿苷

郑林, 刘毅, 卢锦辉*

(贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定前列舒乐颗粒中淫羊藿苷。方法 采用 HPLC 法, Diamonsil(Waters) C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 乙腈-水(28:72) 为流动相; 检测波长 270 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C。结果 淫羊藿苷在 104.96~314.88 μg 线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.85%, RSD 为 1.218。结论 本实验方法准确可行, 重复性好, 可用于前列舒乐颗粒中淫羊藿苷的质量控制。

关键词: 前列舒乐颗粒; 淫羊藿苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)07-1115-02

前列舒乐颗粒来源于贵州苗族验方, 由淫羊藿、黄芪、川牛膝、车前草等组方而成, 用于肾脾双虚, 气滞血瘀, 前列腺增生, 慢性前列腺炎; 神疲乏力, 腰膝痠软无力, 小腹坠胀, 小便不爽, 点滴不出, 或尿频、尿急、尿道涩痛。方中重用淫羊藿补肾壮阳, 祛风除湿, 增精益髓, 为君药, 具有补肾益气、化瘀通淋的功能。该制剂原质量标准中无测定项。为了有效控制产品质量, 实验选用淫羊藿苷作为检测指标, 参照淫羊藿苷的测定方法^[1-3], 采用高效液相色谱法进行测定。方法准确可行, 重现性好, 可有效地控制制剂的质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters2487 双通道紫外检测器, Waters 515 泵(Waters), 威玛龙色谱数据工作站(南宁市威玛龙色谱科技有限公司)。科导超声仪

(工作频率 59 kHz, 功率 250 W)。AUY220 万分之一电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。Etterlab204-S 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

淫羊藿苷对照品(批号 110737-200312)购自中国药品生物制品检定所, 前列舒乐颗粒由贵阳东伟药业有限公司提供(批号 20080302、20080303、20080305、20080306)。

乙腈(天津市大茂化学试剂厂)、甲醇(上海星可生化有限公司)为色谱纯, 乙醇(成都金山化学有限公司)、甲醇(上海振兴化工一厂)为分析纯, 娃哈哈牌纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: Diamonsil(Waters) C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 乙腈-水

* 收稿日期: 2010-01-19

作者简介: 郑林(1964—), 男, 贵州人, 副教授, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: zhenglin_zy@yahoo.com.cn

* 贵阳中医学院药学院 09 届毕业生

(28 : 72) 为流动相; 检测波长 270 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 1 500。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品 13.12 mg 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 再加甲醇定容, 摇匀, 即得 (含淫羊藿苷 26.24 $\mu\text{g/mL}$)。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品精密称定前列舒乐颗粒 1.0 g, 置于 25 mL 量瓶内, 精密加入 60% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 60% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 即得。

2.4 阴性溶液的制备: 按制备工艺制备不含淫羊藿药材的阴性颗粒, 精密称取 1.0 mg 按供试品溶液的制备方法制成阴性溶液。

2.5 线性关系考察: 精密吸取淫羊藿苷对照品溶液 4、6、8、10、12 μL , 按上述色谱条件进样, 测定色谱峰面积, 并以峰面积对进样量进行回归, 得方程 $Y = 2 \times 10^6 X - 135\,168$, $r = 0.999\,9$ 。

2.6 专属性试验: 分别取淫羊藿苷对照品溶液、供试品溶液及缺淫羊藿的阴性对照溶液各 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱。从图 1 可知, 在此色谱条件下, 淫羊藿苷峰与其他组分峰分离完全, 在与淫羊藿苷峰相同的保留时间处, 阴性对照无干扰。

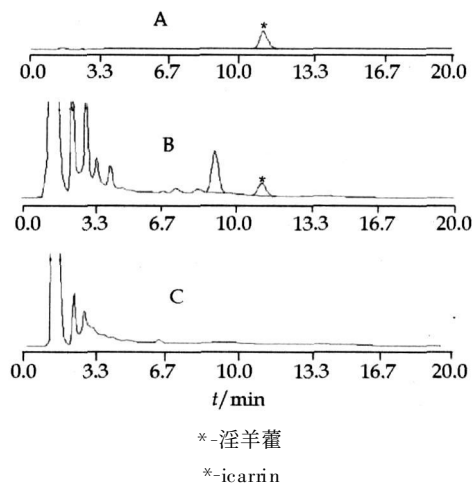


图 1 淫羊藿苷对照品(A)、前列舒乐颗粒(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of icararin reference substance (A), Qianlie Shule Granula (B), and negative sample (C)

2.7 精密度试验: 取供试品溶液 (批号 20080302), 精密吸取 10 μL , 连续进样 3 次, 测定淫羊藿苷峰面积, 其 RSD 为 0.98%。

2.8 重现性试验: 取批号 20080302 样品 6 份, 制备

供试品溶液, 进样测定, 计算淫羊藿苷的质量分数, 结果其 RSD 为 1.20%。

2.9 稳定性试验: 取同一供试品溶液 (批号 20080302), 于 0、2、4、6、12 h 测定, 结果淫羊藿苷峰面积的 RSD 为 1.45%, 表明在 12 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.10 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取样品 (批号 20080305, 含淫羊藿苷 0.566 8 mg/g) 6 份, 取 0.5 g, 置于 25 mL 量瓶内, 精密加入 26.24 $\mu\text{g/mL}$ 淫羊藿苷对照品溶液 8、10、12 mL, 制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL , 进样测定淫羊藿苷峰面积, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.85%, RSD 为 1.14%。

2.11 样品的测定: 精密量取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 进样测定, 外标法计算, 结果见表 1。

表 1 前列舒乐颗粒中淫羊藿苷的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of icararin in Qianlie Shule Granula ($n=2$)

批号	淫羊藿苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	批号	淫羊藿苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
20080305	0.566 1	20080303	0.562 3
20080302	0.571 6	20080306	0.569 1

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的选择: 分别用甲醇超声和回流的方法提取样品, 结果显示超声和回流的结果是一致的, 超声提取操作方便。

3.2 提取溶剂和时间的确定: 提取溶剂的以不同体积分数的甲醇和乙醇分别考察, 以淫羊藿苷质量分数作为考察指标, 发现 60% 甲醇和 60% 乙醇提取的效果好。鉴于乙醇价格便宜, 安全无毒, 所以选择 60% 乙醇提取; 选择乙醇超声提取 20、40、60 min 进行研究, 以淫羊藿苷质量分数作为考察指标, 结果表明提取时间为 60 min 时淫羊藿苷量高。故可以确定提取溶剂为 60% 乙醇, 提取时间为 60 min。

3.3 流动相的选定: 对乙腈-水不同比例进行比较, 发现流动相为乙腈-水 (28 : 72) 时, 分离度较好。

3.4 检测波长的选择: 淫羊藿苷对照品溶液在 200 ~ 300 nm 处有 2 个吸收峰。经过文献检索 273 nm 为常用检测波长, 经过实验验证了 273 nm 为最好选择, 故选择检测波长为 273 nm。

参考文献:

- [1] 李 瑛, 笔 雪. HPLC 法测定益肾灵颗粒中淫羊藿苷的含量 [J]. 中国药事, 2007, 21(11): 904-905
- [2] 叶英响, 石森林, 高 敏. HPLC 法测定抗骨增生软胶囊中淫羊藿苷 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1345-1346
- [3] 王 蕊, 张 锋. HPLC 测定前列舒乐胶囊中淫羊藿苷的含量 [J]. 时珍国医国药, 2006, 8(4): 14-16