

• 科研交流 •

薄层扫描法测定消渴康颗粒中熊果酸的含量

许凤鸣 王兆全 朱元(安徽省医学科学研究所 合肥 230061)

李雪华(安徽中医学院附属医院 合肥 230038)

消渴康颗粒为中药三类复方制剂,由石膏、知母、山茱萸、丹参、生地黄、麦冬、天花粉、玉竹、玄参、泽泻、牛膝等14味中药组成。具有清热养阴、生津止渴之功效,用于治疗阴虚热盛型Ⅱ型糖尿病。现代药理学研究表明,山茱萸有抗糖尿病作用,其醇提物对四氧嘧啶和肾上腺素性糖尿病大鼠有明显的降血糖作用^[1]。另据报道,熊果酸是山茱萸抗糖尿病的活性成分^[2],故本实验采用双波长薄层扫描法,通过测定制剂中熊果酸的含量来控制产品质量。

1 仪器与试药

CS-930型薄层色谱扫描仪(日本岛津),定量点样毛细管(美国Drummond公司),高效硅胶薄层板(山东烟台化工研究所),熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所),消渴康颗粒(广州潘高寿药业股份有限公司),所用化学试剂均为分析纯。

2 实验条件

2.1 薄层色谱条件 展开剂:环己烷-氯仿-乙酸乙酯(20:5:8);显色方法:喷以10%硫酸乙醇溶液,于110℃烘烤约5~7min至呈现清晰斑点。

2.2 薄层扫描条件 $\lambda_s = 520\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$ ^[3], $SX = 3$, $Slit 0.4\text{mm} \times 0.4\text{mm}$,双波长反射式锯齿形扫描。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 精密称取熊果酸对照品,加无水乙醇制成每ml含0.5mg的溶液,作为对照品溶液。

3.2 线性关系的考察 精密吸取上述对照

品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 μl ,分别点于同一硅胶薄层板上,以环己烷-氯仿-乙酸乙酯(20:5:8)展开,取出,晾干,显色后,立即加盖同样大小的玻板,用胶布固定四周,测定各斑点峰面积积分值。以点样量为横坐标,峰面积值为纵坐标,绘制标准曲线,求得回归方程: $Y = 56188x + 1107$ ($r = 0.9992$, $n = 6$)。实验表明熊果酸在所试浓度范围(0.5 $\mu\text{g} \sim 3.0\mu\text{g}$)内,与峰面积呈良好线性关系。

3.3 样品溶液的制备 准确称取研细后的消渴康颗粒15g,置锥形瓶中,精密加入氯仿150ml,称重。加热回流3h,放冷,称重,用氯仿补足减失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液80ml,回收氯仿至干。残留物用适量石油醚浸泡2次,倾去石油醚,残留物加无水乙醇-氯仿(3:2)混合液微热使溶解,定量移至2ml量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为样品溶液。

3.4 稳定性试验 取样品液适量点于薄层板上,展开,显色后,立即测定并在室温下每隔30min测定1次。结果表明峰面积值在5h内较稳定。

3.5 重现性试验 取同一批号样品5份,按含量测定项下的方法测定样品中熊果酸的含量,结果分别为0.572,0.589,0.579,0.568,0.596 $\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ 样品液, $RSD = 2.01\%$ ($n = 5$)。

3.6 精密度试验 吸取熊果酸对照品溶液各2 μl ,分别点于同一薄层板上,共点样6个点,展开,显色后,测得峰面积积分值分别为36068,36891,36503,35809,36093,35126,计

算变异系数 $RSD=1.67\%$ ($n=6$)。又分别点等量的对照品溶液于 5 块硅胶薄层板上, 展开, 显色后, 测得峰面积积分值分别为 34661, 36583, 35706, 34937, 36218, 求得 $RSD=2.30\%$ ($n=5$)。

3.7 空白对照试验 按处方比例, 取山茱萸以外各药制成颗粒作为空白对照品, 按含量测定项下的方法测定其中熊果酸含量。结果表明, 空白对照品在检测波长处无吸收, 说明其它药味对本测定无干扰。

3.8 加样回收率试验 称取已知含量消渴康颗粒 5 份, 每份 15g, 定量加入熊果酸对照品, 按样品液制备和测定方法测定熊果酸含量, 其平均回收率为 97.94% , $RSD=1.96\%$ ($n=5$), 结果见表 1。

表 1 熊果酸回收率测定结果

样品已知含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD ($n=5$)
0.970	0.543	1.493	96.3		
0.970	0.607	1.584	101.2		
0.970	0.488	1.443	96.9	97.94	1.96%
0.970	0.664	1.621	98.0		
0.970	0.513	1.469	97.3		

3.9 样品含量测定 吸取上述样品液 $2\mu\text{l}$, 对照品溶液 $1\mu\text{l}$, $3\mu\text{l}$ 分别交叉点于同一硅胶薄层板上, 按拟定条件展开、显色, 进行扫描测定。计算样品中熊果酸的含量, 结果 3 批样品 (批号 930816, 931024, 931203) 中熊果酸

含量为 6.43, 6.82, 7.05mg/100g。

4 讨论

4.1 鉴于山茱萸中所含的熊果酸有明显的降血糖作用, 故本实验选用熊果酸作为定量指标, 以控制产品质量。

4.2 熊果酸薄层色谱斑点经薄层光谱扫描, 在 520nm 处有最大吸收, 在 700nm 处无吸收, 故选定 $\lambda=520\text{nm}$, $\lambda_R=700\text{nm}$, 与中国药典山茱萸含量测定项下所附条件一致。

4.3 样品经提取、脱脂, 薄层层析、显色等步骤, 得到的薄层色谱图分离效果好, 斑点清晰。并且由缺山茱萸药材制成的空白对照品在 520nm 处无吸收, 表明其它药味对本测定无干扰。

参考文献

- 1 蒋渝, 尹才渊, 周世清. 山茱萸降血糖的实验研究. 中药药理与临床, 1989, 5(1): 36~38
- 2 Johji Yamahara, Hiroyuki Mibu, Tokunosuke Sawada, et al. Biologically Active Principles of Crude Drugs. Antidiabetic Principles of Corni Fructus in Experimental Diabetes Induced by Streptozotocin. Yakugaku Zasshi, 1981, 101(1): 86~90
- 3 中华人民共和国药典(一部). 广州: 广东科技出版社, 1995. 21

(收稿: 1997-11-24)