

诃子配方颗粒质量标准研究

庄玉坚^{1*}, 孙冬梅², 刘法锦²

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广东省中医研究所, 广东 广州 510095)

[摘要] 目的: 建立诃子配方颗粒质量标准。方法: 用TLC进行定性鉴别; 采用RP-HPLC测定诃子配方颗粒中没食子酸的含量。结果: TLC中斑点清晰; HPLC简便、重复性好, 没食子酸进样量在(0.05~0.50) μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系 $r=0.9998$, 平均加样回收率为99.1%, $RSD=2.46\%$ ($n=6$)。结论: 本方法灵敏、简便、重复性好, 可有效控制诃子配方颗粒的质量。

[关键词] 诃子配方颗粒; 没食子酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)11-0007-03

诃子为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 的干燥成熟果实。诃子配方颗粒由诃子经水提取、浓缩、喷雾干燥、干法制粒而成。具有涩肠敛肺、降火利咽的功效。应用TLC法对诃子中没食子酸进行了定性分析; 采用高效液相色谱法测定没食子酸的含量, 并进行方法学考察, 结果表明本方法灵敏、简便、重复性好, 可用于诃子配方颗粒的质量控制。

1 仪器与药品

1.1 仪器 薄层色谱点样仪(CAMAG Automatic TLC Sampler 4); 薄层色谱成像系统(CAMAG Reprostar 3); 高效液相色谱仪(Agilent 1100系列, DAD检测器, 四元梯度泵, G2170A数据处理系统); BP211D电子分析天平(德国, Sartorius)。

1.2 药品和试剂 诃子配方颗粒(广东一方制药有限公司, 批号0604016、0607009、0612081、0607632、0511101, 规格: 每袋装1.5g, 相当于10g中药饮片); 诃子对照药材(批号: 121015-200503, 购自中国药品生物制品检定所); 没食子酸对照品(0831-9501, 购自中国药品生物制品检定所); 聚酰胺薄膜(浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂, 规格: 10cm×20cm); 液相用甲醇为色谱纯; 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性方法

2.1.1 样品液的制备 分别取各批号的诃子配方颗粒粉末0.3g, 加无水乙醇30mL, 加热回流30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇2mL使溶解, 作为供试品溶液。

2.1.2 诃子对照药材溶液的制备 取诃子对照药材1g, 加无水乙醇30mL, 按2.1.1项下方法, 同法制备对照药材溶液。

2.1.3 没食子酸对照品溶液的制备 取没食子酸对照品2mg, 加适量甲醇溶解, 制成每1mL含1mg的对照品溶液。

2.1.4 薄层色谱法 取上述溶液各2μL, 分别点于同一聚酰胺薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸(3:1)为展开剂, 上行展开两次, 取出, 晾干, 喷以2%三氯化铁乙醇液, 日光下检视, 斑点呈蓝色(见图1)。

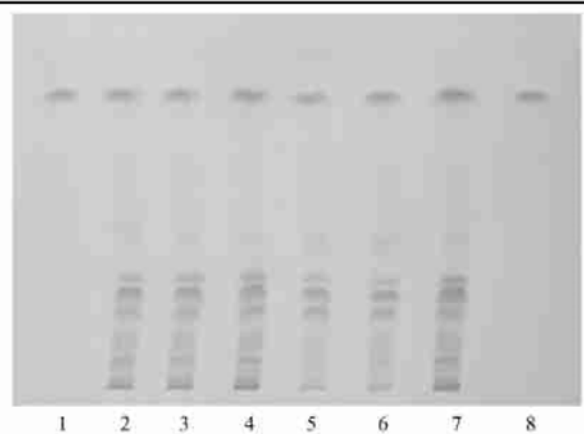


图1 诃子配方颗粒薄层色谱图

1, 8 没食子酸对照品; 2 诃子对照药材; 3-7 诃子配方颗粒供试品

[收稿日期] 2008-03-17

[通讯作者] * 庄玉坚, Tel: (020) 83501292; E-mail:

yujianzhuang0703@163.com

2.2 高效液相色谱法测定没食子酸含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Gemini C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 5 mmol·L⁻¹ 磷酸-甲醇 (2:98); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 检测波长: 270 nm, 进样量: 10 μL。本试验条件下, 色谱峰峰形良好, 保留时间为 16.479 min^[1]。(见图 2)

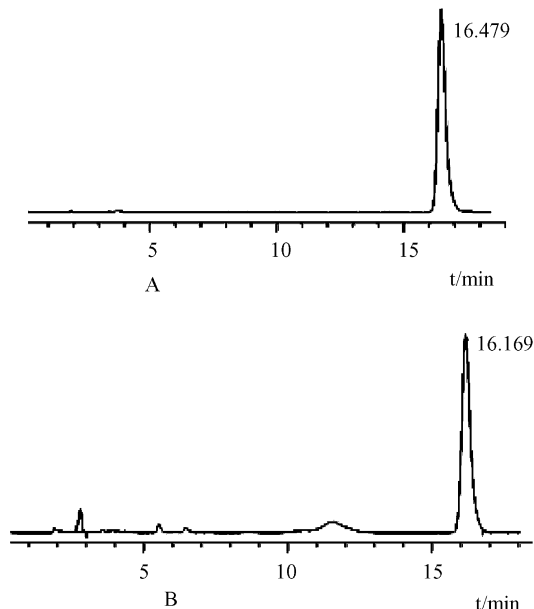


图 2 诃子配方颗粒 HPLC 色谱图

A 没食子酸对照品; B 诃子配方颗粒

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 1.25 mg, 置 25 mL 容量瓶中, 加水溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液(浓度为 50 μg·mL⁻¹)。

2.2.3 供试品溶液的制备 取诃子配方颗粒(批号: 0511101) 粉末(过 3 号筛) 约 50 mg, 精密称定, 加甲醇 40 mL, 回流提取 2 次, 每次 30 min, 滤过, 合并滤液, 置 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 精密吸取 5 mL, 蒸干, 加入 10% 盐酸 5 mL, 沸水浴中加热水解 4 h, 取出迅速冷却至室温, 移至 25 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得^[1]。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取储备液(0.05 mg·mL⁻¹) 1, 2, 4, 8 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 制成浓度分别为 0.005, 0.010, 0.020, 0.040 mg·mL⁻¹ 及储备液 0.050 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。精密吸取对照品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积(n=2), 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标作线性回归, 结果表明没食子酸进样量在(0.05~0.50) μg 范围内线性关系良好。回归方程为: $Y = 3.62 \times 10^3 X - 18.37, r = 0.9998$ 。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD= 1.23% (n=6)。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: 0511101), 在 0~24 h 间隔进样, 每次 10 μL, 测定峰面积积分值, RSD= 1.87% (n=6)。表明样品在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性考察 取同一供试品(批号: 0511101), 按 2.2.3 项下制备方法配制 5 份供试液, 吸取 10 μL 进样 2 次, 记录色谱图, 以平均峰面积按标准曲线法计算含量。结果 RSD= 1.33% (n=5)。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取没食子酸对照品 21.22 mg 于 25 mL 容量瓶中, 加水溶解(稀释) 至刻度, 摇匀, 得加样对照液。精密称取已知含量的供试品(批号: 0511101) 约 25 mg, 共 6 份, 分别加入上述加样对照液 3.5 mL, 按供试品溶液的制备方法制备, 吸取 10 μL, 进样 2 次, 记录色谱图, 以平均峰面积按标准曲线法计算含量。计算平均加样回收率为 99.1%, RSD= 2.46% (n=6)^[2]。见表 1。

表 1 没食子酸加样回收率测定结果(n=6)

样品中 没食子酸 含量(mg)	没食子酸 对照品 加入量(mg)	测得没食 子酸总量 (mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
3.202 4	2.970 8	6.066 1	96.4	99.1	2.46
3.273 9	2.970 8	6.148 4	96.8		
3.202 4	2.970 8	6.248 2	102.5		
2.891 7	2.970 8	5.804 5	98.0		
3.095 3	2.970 8	6.089 6	100.8		
3.154 8	2.970 8	6.135 3	100.3		

2.2.9 样品测定 同批供试品连续取样 3 份, 依供试品溶液的制备项下所述方法配制, 对批号为 0604016、0607009、0612081、0607632、0511101 的样品进行测定, 取 10 μL 进样, 计算含量^[3]。见表 2。

表 2 样品中没食子酸的含量(n=3)

批号	没食子酸含量(%)	RSD(%)
0607632	14.26	1.02
0607009	14.91	1.52
0604016	11.08	1.16
0612081	14.38	1.23
0511101	11.91	1.38

3 讨论

对诃子配方颗粒进行薄层鉴别时, 注意点样量

不宜过大,且浓度不宜过高,经比较认为采用聚酰胺薄膜比硅胶薄层板分离鉴别效果好,色谱斑点清晰。

由于诃子主要成分是可水解鞣质,酸水解后的产物主要是没食子酸,故对诃子配方颗粒进行酸水解后的没食子酸进行含量测定。所用液相色谱条件为文献[1]所述色谱条件和水解时间。采用此条件进行测定,所得峰形对称,分辨率高,符合本品定量分析的要求。结果表明方法简便易行,重复性好,结果准确,可有效地控制诃子配方颗粒的质量。

[参考文献]

- [1] 卢平华,颜玉贞.诃子质量标准研究[J].中药新药与临床药理,2002,11(13):385-410.
- [2] 聂桂华,李振国,吕玉奇,等.诃子易混淆品中鞣质成分的RP-HPLC分析[J].中国药学杂志,2001,8(36):517-519.
- [3] 崔 岚,李肖玲,祝德秋,等.清炎颗粒中没食子酸定性定量方法的研究[J].中南药学,2003,10(1):209-210.