

贞糖康胶囊质量标准的研究

何夏秋, 贺建华, 刘会涛, 郭宇洁, 徐 辉, 刘建勋

(中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

摘要:目的: 建立了贞糖康胶囊中女贞子的鉴别和含量测定方法。方法: 采用 TLC 法鉴别女贞子, 并且, 以 HPLC 法对贞糖康胶囊中齐墩果酸和熊果酸进行了含量测定。色谱柱为岛津产 CLC-ODS(150mm × 6.0mm, 5 μ m); 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(85: 15: 0.035: 0.02) 为流动相; 检测波长为 210nm; 柱温 25℃。结果: 平均回收率分别为 103.7% 和 100.7%, RSD% 依次为 1.5% 和 1.8% (n= 5~ 6)。结论: 该法可作为该药的质量控制标准应用。

关键词: 贞糖康胶囊; 薄层鉴别; 齐墩果酸; 熊果酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0024-02

贞糖康胶囊是由女贞子中提取得到的有效部位制备而成的制剂, 具有滋阴补肾。主治由于肾阴虚, 肾精不固, 尿量多、尿甜而形成的糖尿病。主要活性成分为以齐墩果酸为代表的三萜类成分, 以 HPLC 法对女贞子中的齐墩果酸和熊果酸进行了含量测定。

1 仪器与试剂

Waters 600 高效液相色谱仪, 2487 紫外检测器(美国产); 对照品: 齐墩果酸和熊果酸(0709-9803, 742-9405, 供含量测定用), 由中国药品生物制品检定所提供; 硅胶 G(青岛海洋化工厂, 薄层层析用); 甲醇为 Fisher Scientific, 色谱纯; 水为自制的超纯水; 3 批样品(批号 991211, 991212 和 991213), 由本室制备。

2 实验方法与结果

2.1 贞糖康胶囊的薄层色谱鉴别 取本品内容物 20mg, 置 5mL 的容量瓶中, 加入无水乙醇超声使溶解, 作为供试品液; 另取齐墩果酸对照品, 加无水乙醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。另取糊精适量, 依法制备成阴性对照溶液, 照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 分别吸取上述溶液各 6 μ L, 分别点于同一块以 0.2% 羧甲基纤维素钠为粘和剂的硅胶 G 薄层板上, 以石油醚-丙酮-甲醇(8: 2: 0.3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干。喷以 10% 的硫酸乙醇溶液, 110℃ 烤至斑点清晰。

2.2 色谱条件与系统的适应性试验^[1-3] 色谱柱: 岛津产 ODS(150mm × 6.0mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(85: 15: 0.035: 0.02), 临用前经超声脱气处理 30min; 流速: 1mL · min⁻¹, 检测波长为 210nm; 灵敏度: 0.08AUFS。

2.3 线性关系 取对照品齐墩果酸、熊果酸适量, 精密称定, 加甲醇配制成每 1mL 各含 0.0522mg 和 0.02446mg 的溶液, 摇匀。分别精密吸取齐墩果酸、熊果酸对照品溶液 5、10、15、20、25、30 μ L 注入液相色谱仪中, 测定峰面积值。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为: 齐墩果酸 $Y = -1.79 \times 10^4 + 3.88 \times 10^5 X$, $r = 0.9998$, 线性范围 0.26~ 1.57 μ g; 熊果酸 $Y = -1.20 \times 10^4 + 4.06 \times 10^5 X$, $r = 0.9995$, 线性范围 0.12~ 0.73 μ g。

2.4 稳定性试验 精密吸取供试品溶液(浓度为 0.21mg/mL) 进样 20 μ L, 分别于配制后 1、2、3、4、5、24h, 依法测定, 结果表明, 供试品溶液在 24h 内很稳定。齐墩果酸的平均面积值为 330615, RSD 为 1.3%; 而熊果酸的平均面积值为 107370, RSD 为 2.2%。

2.5 精密度试验 精密吸取供试品溶液(浓度为 0.19mg/mL) 进样 20 μ L, 重复进样 5 次。齐墩果酸的平均面积值为 266224, RSD 为 0.9%; 而熊果酸的平均面积值为 84699, RSD 为 0.2%。

2.6 重复性试验 称取同一批号样品(991211) 5 份, 依法进行测定, 结果为: 齐墩果酸的平均含量为 57.3mg/粒, RSD 为 2.3%; 而熊果酸的平均含量为 14.7mg/粒, RSD 为 3.0%。

2.7 回收率试验 采用加样回收法。精密称取已

收稿日期: 2004-03-31

通信作者: 何夏秋, Tel: (010) 62875599-6174, E-mail: Hexiaqiu@

sina.com.cn

知含量的同一批号样品(991211, 齐墩果酸含量为 13.7%, 熊果酸含量为 3.5%) 10.63mg 及 14mg, 分别置两个 10mL 的量瓶中, 加入甲醇使溶解后。精密吸取第一个量瓶中的溶液各 1mL, 另精密吸取齐墩果酸对照品溶液, 浓度为: 0.1182mg/mL 的溶液 1.2mL, 同置于 5 个 10mL 的量瓶中, 加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 依法测定 5 份样品中齐墩果酸的回收率; 同法精密吸取第二个量瓶中的样品溶液各 1mL, 另加入熊果酸对照品溶液, 浓度为 0.1782mg/mL 的溶液 0.2mL, 用测得的总值减去已知样品含量之差, 除以加入对照品的量, 即为回收率。结果见表 1-1 和表 1-2。

表 1-1 齐墩果酸的回收试验

| 样品编号 | 已知样品含量(mg) | 加入对照品量(mg) | 测得总量(mg) | 回收率(%) |
|----------|------------|------------|----------|--------|
| 1 | 0.1451 | 0.1418 | 0.2396 | 104.7 |
| 2 | 0.1451 | 0.1418 | 0.2917 | 103.4 |
| 3 | 0.1451 | 0.1418 | 0.2925 | 104.0 |
| 4 | 0.1451 | 0.1418 | 0.2939 | 105.0 |
| 5 | 0.1451 | 0.1418 | 0.2887 | 101.3 |
| 平均回收率(%) | | | 103.7 | |
| RSD(%) | | | 1.5 | |

表 1-2 熊果酸的回收率试验

| 样品编号 | 已知样品含量(mg) | 加入对照品量(mg) | 测得总量(mg) | 回收率(%) |
|----------|------------|------------|----------|--------|
| 1 | 0.049 | 0.0356 | 0.0854 | 102.2 |
| 2 | 0.049 | 0.0356 | 0.0836 | 97.2 |
| 3 | 0.049 | 0.0356 | 0.0852 | 101.7 |
| 4 | 0.049 | 0.0356 | 0.0850 | 101.1 |
| 5 | 0.049 | 0.0356 | 0.0852 | 101.7 |
| 6 | 0.049 | 0.0356 | 0.0847 | 100.3 |
| 平均回收率(%) | | | 100.7 | |
| RSD(%) | | | 1.8 | |

2.8 样品测定 精密称取样品内容物约 2mg, 置 10mL 的量瓶中, 加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 以 0.45 μ m 的针筒微孔滤器过滤, 取续滤液作为供试品溶液。另精密称取齐墩果酸和熊果酸适量, 加甲醇配制成每 1mL 各含 0.0313mg 和 0.0163mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。精密吸取上述两种溶液各 20 μ L, 按照 2.1 项下的方法, 分别注入液相色谱仪, 测定并计算含量, 结果见表 2。

表 2 三批样品的含量测定

| 批号 | 齐墩果酸(mg/粒) | RSD(%) | 熊果酸(mg/粒) | RSD(%) |
|--------|------------|--------|-----------|--------|
| 991211 | 57.3 | 2.3 | 14.7 | 3.0 |
| 991212 | 54.5 | 0.9 | 15.2 | 2.1 |
| 991213 | 54.5 | 2.2 | 15.2 | 0.7 |

3 讨论

本胶囊中齐墩果酸和熊果酸互为同分异构体, 又为末端吸收, 给色谱的分离带来了困难。本试验曾先后试用了多个厂家产的色谱柱, 有 Zorbax-XDB-C₁₈, Watters Symmetry ODS-C₁₈ 柱(美国产), 最后选用了岛津产的 CLC-ODS 色谱柱。在流动相配制时, 加入甲醇量的多少对色谱分离的影响很大, 而加入少量的冰乙酸和三乙胺可有效地改变峰形。

参考文献:

- [1] 吕曙华, 王强, 夏光成, 等. 中药女贞子中齐墩果酸、熊果酸的高效液相色谱分析[J]. 药物分析杂志, 1993, 13(5): 291.
- [2] 丁晴, 徐德然, 王峥涛. HPLC 法测定六味地黄丸及六味地黄胶囊中齐墩果酸、熊果酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 587~ 589.
- [3] 袁珂, 董留民. HPLC 法测定冬凌草中齐墩果酸、熊果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(9): 1~ 2.