

益津降糖颗粒质量标准的研究

沈丽娟¹, 徐飞¹, 齐海峰², 王晓艳³ (1. 吉林省药品检验所, 长春 130062; 2. 长春中医学院 1998 届毕业生; 3. 吉林省医药工业研究所)

摘要:目的 制定益津降糖颗粒质量标准。方法 采用薄层色谱法定性鉴别甘草、仙人掌; 用高效液相色谱法测定制剂中人参皂苷 R_{g1} 及 Re 的含量。以 C₁₈ 化学键合硅胶为固定相, 以乙腈-0.05% 磷酸溶液 (99:400) 为流动相, 检测波长为 203 nm。结果 定性鉴别色谱特征明显, 重现性好; 含量测定 R_{g1} 及 Re 的平均回收率分别为 97.69%, 98.35%, 线性范围分别为 0.628 ~ 4.396 μg、0.920 ~ 6.440 μg。结论 建立了该制剂的质量标准, 其定性与定量方法可靠、实用。

关键词: 益津降糖颗粒; 甘草; 仙人掌; 人参皂苷 R_{g1}; Re

中图分类号: R287; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2003)03-0215-03

Study on quality standards of Yijin Jiangtang keli

SHEN Li-juan¹, XU Fei¹, QI Hai-feng², WANG Xiao-yan³ (*Jilin provincial Institute for Drug Control, Changchun, 130062, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish Quality standards of Yijinjiangtang Keli. **METHOD** Radix Glycyrrhizae and Herba Opuntia dillenii were identified by TLC. The content of Ginsenoside R_{g1} and Re in Yijinjiangtang Keli were determined by HPLC, with C₁₈ chemical bonded silica gel as solid phase and acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (99:400) as mobile phase, UV detection

wavelength at 203 nm. **RESULTS** The characteristics for identification by TLC were distinct. The average recoverys of R_{g1} and Re were 97.69 % and 98.35 %. Their linear range were 0.628 ~ 4.396 μg and 0.920 ~ 6.440 μg respectively. **CONCLUSION** The quality standard of the preparation was provided. The method for identification and quantification was reproducible and realizable.

KEY WORDS: Yijinjiangtang keli; Radix Glycyrrhizae; Herba Opuntia dillenii; Ginsenoside R_{g1} and Re

益津降糖颗粒为治疗糖尿病之新药。由人参、甘草等多味中药组成。为控制药品质量,以薄层色谱鉴别甘草、仙人掌,并对方中人参所含成分人参皂苷 R_{g1} 及 Re 以反相高效液相色谱法测定其含量,建立了该产品质量标准。

1 仪器、试剂及样品

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪;岛津 CLASS-LC10 液相色谱工作站;人参皂苷 R_{g1}、Re 对照品为含量测定用,批号:R_{g1}:0703-9611、Re:754-9002(中国药品生物制品检定所);甘草、仙人掌对照药材、益津降糖颗粒(吉林省龙井市中药厂);硅胶 G 为薄层色谱规格(青岛海洋化工厂);聚酰胺膜(浙江省台州市路桥四青生化材料厂);乙腈:色谱纯,磷酸:优质纯,其它试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

鉴别(1)取本品 10g,研细,加甲醇回流提取 3 h,提取液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加醋酸乙酯萃取三次,合并醋酸乙酯液,蒸干。残渣加醋酸乙酯 2 mL 使溶解。作为供试品溶液。另取甘草对照药材 3g,加乙醚回流 2 h,弃乙醚液,残渣挥干溶剂,再加甲醇回流提取 3 h,以下同供试品溶液制备方法,制得对照药材溶液。吸取上述 2 种溶液各 4 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(32:17:5)下层溶液为展开剂,展距 8 cm,取出,晾干,喷以 10 % 硫酸乙醇溶液,105 ℃加热至斑点显色清晰,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。

鉴别(2)取本品 10g,研细,加氯仿回流 2 h,弃氯仿液,加甲醇回流提取 4 h,提取液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加于已处理好的聚酰胺柱(内径 2 cm,填充高度 15 cm)上,以水 200 mL 预洗,继用醋酸乙酯洗脱,收集洗脱液 150 mL,蒸干,残渣加醋酸乙酯 2 mL 使溶解,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取仙人掌对照药材 10g,加 80 % 乙醇 100 mL,回流 4 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加石油醚(30 ~ 60 ℃)萃取二次,弃去石油醚液,加醋酸乙酯萃取三次,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加醋酸乙酯 5 mL 使溶解,滤过,滤液作为对照药材溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 3 μL,分别点于同一聚酰胺膜上,以氯仿-甲醇-浓氨试液(3:1:0.2)为展开剂,展距 7 cm,取出晾干,喷以 1 % 三氯化铝乙醇溶液,105 ℃加热约 3 min,置紫外光灯下(365 nm)检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

3 含量测定

3.1 测定波长的选择

经 UV-2201 分光光度计扫描,人参皂苷 R_{g1} 在 203.5 nm,人参皂苷 Re 在 203.9 nm 波长处有最大吸收,故选择测定波长为 203 nm。

3.2 流动相的选择

比较流动相了乙腈-0.05 % 磷酸的(18:82)^[1](95:400)、(99:400) 3 种组成,结果 99:400 的分离效果好,保留时间适中,故选用该组成。

3.3 对照品溶液、供试品溶液及空白溶液的制备

精密称取人参皂苷 R_{g1} 及 Re 对照品适量,加甲醇制成每毫升约含人参皂苷 R_{g1}:0.3 mg,Re:0.4 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。

取本品研细,精密称取约 5.0 g,加氯仿回流脱脂 4 h,弃去氯仿液,再加甲醇回流提取至近无色,收集甲醇提取液,蒸干,残渣加 2 % 氢氧化钠溶液 30 mL 使溶解,定量转移至分液漏斗中,加水饱和和正丁醇萃取 6 次,合并正丁醇萃取液,以正丁醇饱和的水洗 2 次,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇溶解并定容于 10 mL 量瓶中,作为供试品溶液。

取不含人参的阴性对照品 5.0 g,按供试品溶液的制备方法操作,制成空白对照溶液。

3.4 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱:Techpsshere 5 ODS 5 μm (250 mm × 4.6 mm) (UK);流动相:乙腈-0.05 % 磷酸水溶液(99:400);流速:1.5 mL/min;检测波长:203 nm;柱温:40 ℃。依上述色谱条件,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及空白对照溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,照高效液相色谱法^[2]测定,得到人参皂苷 R_{g1}、Re 对照品及样品、空白对照品的液相色谱图。理论板数以人参皂苷 Re 峰计算 N=8829, R_{g1} 与 Re 峰之间的分离度 R=1.67,大于 1.5,符合药典规定。用大连化物所 YWG C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm) 10 μm 色谱柱测定,Re 的理论板数为 3408,分离度大于 1.5,故理论板数规定应不低于 3500,分离度应大于 1.5。空白对照溶液在人参皂苷 R_{g1}、Re 相应的保留时间附近无干扰。

3.5 线性关系考察

精密吸取对照品溶液(R_{g1}:0.314 mg/mL,Re:0.46 mg/mL)2,4,6,8,10,12,14 μL,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积对进样量进行回归处理,得回归方程为:

人参皂苷 R_{g1}: $y = 210\,089.97x - 3\,614.29$ ($r = 0.999\,5$)

人参皂苷 Re: $y = 184\,446.89x - 8\,623.0$ ($r = 0.999\,7$)

结果表明,人参皂苷 R_{g1} 在(0.628 ~ 4.396 μg),Re 在(0.920 ~ 6.440 μg)范围内具有良好的线性关系,直线均近似通过原点,可采用外标一点法计算。

3.6 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 10 μL,进样,重复测定 5 次,结果 R_{g1} 及 Re 的 RSD 分别为 1.05 % 和 0.73 %。

3.7 重现性考察

取 981102 批号样品依法独立测定 5 次,测得人参皂苷

R_{g1}及 Re 平均含量分别为 0.6325,0.840 mg/ g ; RSD 分别为 2.10 % ,4.02 % 。

3.8 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已测知含量的样品(批号:981102)5份,分别精密加入一定量的人参皂苷 R_{g1}及 Re 对照品(R_{g1}:1.525 mg/ mL,Re:2.074 mg/ mL,各加1 mL),按样品含量测定方法测定,计算回收率,结果分别见表1,表2。

表1 回收率试验结果(R_{g1})

Tab 1 Results of recovery experiments(R_{g1})

序号	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	1.525 0	3.085 9	98.26	97.69	0.89
2	1.525 0	3.071 6	97.35		
3	1.525 0	3.053 2	96.50		
4	1.525 0	3.096 5	98.75		
5	1.525 0	3.070 9	97.57		

表2 回收率试验结果(Re)

Tab 2 Results of recovery experiments(Re)

序号	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	2.074 0	4.192 5	99.53	98.35	1.45
2	2.074 0	4.157 6	97.87		
3	2.074 0	4.168 7	98.77		
4	2.074 0	4.195 7	99.47		
5	2.074 0	4.115 6	96.10		

3.9 样品测定 依法测定样品三批,结果见表3

表3 样品测定结果

Tab 3 Assay results of sample

批号	R _{g1} 含量 (mg/ g)	Re 含量 (mg/ g)
981101	0.638 2	0.890 3
981102	0.632 5	0.848 0
981103	0.629 0	0.857 1

4 讨论

4.1 甘草的 TLC 鉴别,由于本处方中人参的存在,人参皂苷对甘草中皂苷类成分的提取鉴别干扰大,故本实验按其黄酮苷类成分进行提取鉴别,排除人参皂苷的影响,薄层效果较好。

4.2 仙人掌的 TLC 鉴别,笔者未在文献中见报道,经大量实验,比较了多个展开系统,采用本展开系统进行 TLC,效果较好。

4.3 样品含量测定的前处理方法,除用本法外,还试用了超声法和树脂柱洗脱法。超声法测定结果 R_{g1}、Re 的吸收峰很小,提取效果极不好。甲醇提取、D-101 树脂柱洗脱法测定结果虽然与本法无显著性差异,但其洗涤杂质时所用碱水及水量很大(约450 mL),费时,且定容时不溶物较多,溶液颜色较深,对色谱柱污染较大。而用本法处理,甲醇提取物经2%氢氧化钠溶液溶解,再用水饱和的正丁醇萃取,可使黄酮类成分及大量的酸性杂质留在水层中而不被正丁醇提出,正丁醇层颜色很浅,其中杂质大大减少,有利于保护色谱柱。

参考文献

[1] 王秀兰.高效液相色谱法测定生脉注射液中人参皂苷 R_{g1}、Re 的含量[J].华西药学杂志,1996,11(1):19.
[2] 中国药典.2000年版(一部)[S].2000.

收稿日期:2001-02-22