

糖足颗粒质量标准研究

姜建民, 夏正燕, 冯瑛(浙江省中药研究所, 杭州 310023)

摘要: 目的 建立糖足颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对糖足颗粒中的黄芪、防己、当归 3 味主要中药进行定性鉴别, 以高效液相色谱法对其主药赤芍中的芍药苷进行含量测定。结果 定性鉴别分离度好, 专属性强; 芍药苷在 0.504~5.040 μg 内线性关系良好, $r=0.999\ 8(n=6)$, 平均回收率为 97.74%, RSD 为 0.72%($n=6$)。结论 本法可靠, 准确, 专属性强, 可有效控制糖足颗粒的质量。

关键词: 糖足颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 芍药苷; 质量标准

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)08-0714-04

作者简介: 姜建民, 男, 工程师, 执业药师

Tel: (0571)85241075

E-mail: 81854287@163.com

Study on Quality Standard of Tangzu Granule

JIANG Jianmin, XIA Zhengyan, FENG Ying(Zhejiang Research Institute of Chinese Meteria Madica, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standard for Tangzu granule. **METHODS** Thin-layer chromatography (TLC) was employed to identify Radix Astragali, Radix Stephaniae tetrandrae and Radix Angelicae Sinensis, while high performance liquid chromatography(HPLC) was applied for the determination of paeoniflorin in Radix Paeoniae Rubra in Tangzu granule. **RESULTS** The identification by TLC was distinct and highly specific. A linearity was obtained from 0.504 μg to 5.040 μg of paeoniflorin in Tangzu granule with a good correlation ($r=0.999\ 8$, $n=6$). The average recovery was 97.74%, and RSD was 0.72%($n=6$). **CONCLUSION** The method is reliable, accurate and specific and can be used for quality control of Tangzu granule. **KEY WORDS:** Tangzu granule; TLC; HPLC; paeoniflorin; quality standard

糖足颗粒是由赤芍、黄芪、防己、当归等 8 味中药组成的复方制剂，具运脾化湿、活血通络、清热解毒的功效，主要用于糖尿病足早期。为控制该制剂的内在质量，本试验参考文献^[1-5]中的方法，采用薄层色谱法对方中 3 味主药进行定性鉴别，并以高效液相色谱法对其主药赤芍中的芍药苷进行含量测定。该方法专属性强，重复性好，可作为该制剂质量控制的依据。

1 仪器和试剂

硅胶 G(青岛海洋化工有限公司); PE Series 200 高效液相色谱仪(美国珀金埃尔默公司); 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(北京迪马公司); KQ-100DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 芍药苷(用于 HPLC, 含量 99.4%)、黄芪甲苷、粉防己碱、防己诺林碱对照品(批号分别为 0736-200219, 0781-9807, 711-9103, 793-9202)、当归对照药材(批号: 0927-9705)均购自中国药品生物制品检定所; 其他试剂均为分析纯。糖足颗粒(浙江省中药研究所制剂室自制, 批号 070620, 071015, 071017, 071019)。

2 薄层色谱法

2.1 黄芪的薄层鉴别

黄芪乃方中君药，益气扶正，故选择对黄芪进行定性研究，拟作此方的质量控制指标之一。经摸索，取本品粉末 5 g，加正丁醇加热回流、放冷、滤过，滤液用 10%氢氧化钠溶液萃取，并用正丁醇饱和水溶液洗至中性，蒸干，残渣用乙醇溶解，作为供试品溶液。取缺黄芪的阴性样品 5 g，同法制成阴性对照溶液。另取黄芪甲苷对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验，分别吸取阴性对照溶液、供试品溶液、对照品溶液

适量，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)的下层溶液作为展开剂，以 10%硫酸乙醇溶液作为显色剂，有较好的分离效果且阴性无干扰，见图 1。

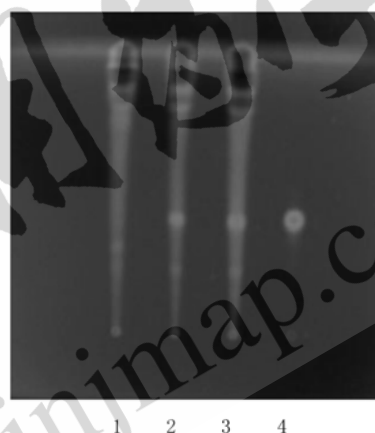


图 1 黄芪 TLC

1-阴性样品; 2, 3-样品溶液; 4-黄芪甲苷对照品

Fig 1 TLC of Radix Astragali

1-negative reference substance; 2, 3-sample; 4-standard solution of astragaloside IV

2.2 当归的薄层鉴别

当归为方中臣药，有活血补血之功效。故选择对方中当归进行研究，拟作此方的质量控制指标之一。经摸索，取本品粉末 5 g，加乙醚超声、滤过、蒸干，残渣用乙酸乙酯溶解，作为供试品溶液。另取当归药材、对照药材各 0.5 g，缺当归的阴性样品 5 g，同法制成当归药材溶液、对照药材溶液、当归阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验，分别吸取阴性对照溶液、供试品溶液、对照药材溶液，点于同一硅胶 G 薄层板上，以正己烷-乙酸乙酯(4:1)作为展开剂，有较好的分离效果且阴性无干扰，见图 2。

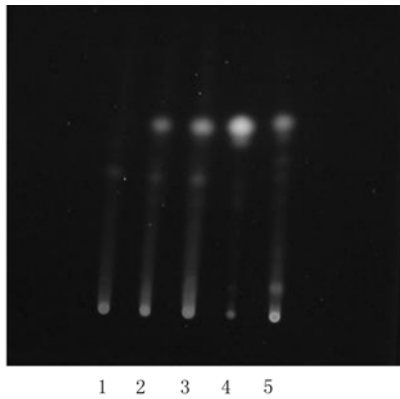


图2 当归 TLC

1-阴性样品; 2, 3-样品溶液; 4-当归药材; 5-对照药材

Fig 2 TLC of Radix Angelicae Sinensis

1-negative reference substance; 2, 3-sample; 4-Radix Angelicae Sinensis
5-reference substance with Radix Angelicae Sinensis

2.3 防己的薄层鉴别

防己为臣药,在方中起祛湿消肿止痛之效,与此方的药效一致。故选择对方中防己进行研究,拟作此方的质量控制指标之一。经摸索,取本品粉末5 g,加乙醇加热回流、放冷、滤过、蒸干,残渣加盐酸溶解,用浓氨调至pH 9以上,再用环己烷-乙酸乙酯(1:3)萃取,蒸干,残渣用乙醇溶解,作为供试品溶液。取缺防己的阴性样品5 g,同法制成阴性对照溶液。另取粉防己碱、防己诺林碱对照品,加三氯甲烷制成每1 mL含1 mg的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典2005年版一部附录VI B)试验,分别吸取阴性对照溶液、供试品溶液、对照品溶液,点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-丙酮-甲醇(6:1:1)作为展开剂,以稀碘化铋钾试液-三氯化铁试液(100:1)作为显色剂,取得较好的分离效果且阴性无干扰,见图3。



图3 防己 TLC

1-阴性样品; 2, 3-样品溶液; 4-粉防己碱、防己诺林碱混合对照品

Fig 3 TLC of Radix Stephaniae tetrandae

1-negative reference substance; 2, 3-sample; 4-tetrandine and fangchinoline mixed standard solution

3 芍药苷的含量测定研究

3.1 高效液相色谱条件

PE Series 200 高效液相色谱仪; Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.01%磷酸溶液(15:85)为流动相; 检测波长为230 nm; 流速1 mL·min⁻¹。柱温: 30 ℃; 保留时间: 约20 min; 理论塔板数: 不低于3 000。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取真空干燥至恒重的芍药苷对照品适量,加甲醇溶解,制成每1 mL含0.1 mg的溶液,作为对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备

精密称取本品0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加水20 mL,超声处理10 min,取出,放冷,滤过,精密量取续滤液2 mL加于聚酰胺柱(30~60目,3 g,内径约10 mm,湿法上柱),加水100 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用50%甲醇溶解并转移至5 mL量瓶中,加50%甲醇至刻度,摇匀,用0.45 μm的微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

3.4 空白试验

取缺赤芍阴性样品0.5 g,按照“3.3”项下方法提取,按上述色谱条件分析。与对照品相应的位置上,无明显其他峰出现。结果证明阴性样品对该试验无干扰,见图4。

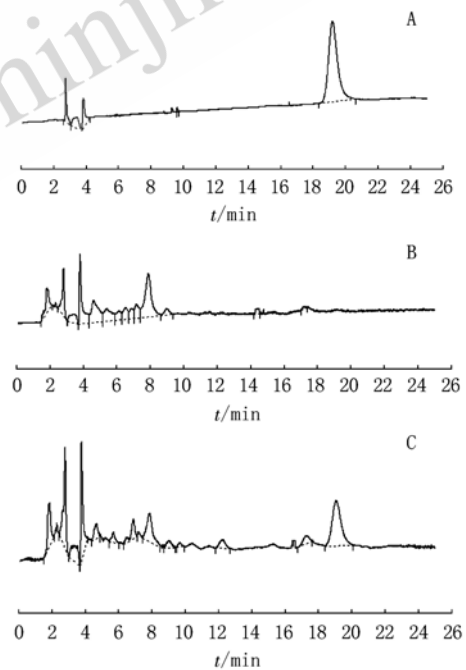


图4 芍药苷供试品和对照品 HPLC 色谱图

A-芍药苷对照品; B-缺赤芍阴性样品; C-糖足颗粒供试品

Fig 4 HPLC chromatograms

A-standard solution of paeoniflorin; B-blank; C-Tangzu granule sample

3.5 标准曲线的绘制

精密称取芍药苷对照品 6.3 mg，加甲醇适量溶解并定容至 25 mL，精密吸取该溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 20.0 μL 进样，记录色谱图。以浓度(C)为横坐标，峰面积(A)为纵坐标，进行线性回归，计算得回归方程为 $A=787\ 545C+39\ 225$ ， $r=0.999\ 8$ 。

3.6 仪器精密度试验

取同一对照品溶液重复进样测定 5 次，芍药苷平均峰面积为 1 647 810， $\text{RSD}=0.77\%(n=5)$ ，结果表明仪器精密度良好。

3.7 重复性试验

按拟定的方法对同一批样品(070620)进行 6 次平行的测定，结果芍药苷平均含量为 $8.570\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ， $\text{RSD}=0.85\%(n=6)$ 。表明样品方法重复性良好。

3.8 稳定性试验

取样品(070620)适量，按“3.3”项下方法制成供试品溶液，放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h，分别进行测定，结果芍药苷平均峰面积为 1 482 934， $\text{RSD}=1.98\%(n=6)$ ，表明样品溶液放置 24 h 内稳定。

3.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(070620)6 份，分别添加芍药苷对照品(浓度为 $1.58\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，甲醇溶解)1.4 mL，挥干甲醇，按“3.3”项下方法制成供试品溶液，依法进行测定，计算回收率，结果见表 1。

表 1 加样回收率试验测试结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均 回收率/%	RSD/ %
2.130	2.212	4.302	98.19	97.74	0.72
2.195	2.212	4.366	98.16		
2.173	2.212	4.321	97.11		
2.069	2.212	4.212	96.89		
2.210	2.212	4.393	98.68		
2.072	2.212	4.227	97.40		

3.10 样品含量测定

取样品(批号分别为：071015，071017，071019)，按“3.3”项下方法制备供试液，依上述色谱条件测定。3 批样品中芍药苷含量分别为 5.876, 5.573, $5.718\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

防己的薄层鉴别曾选择过几种提取条件：包括乙醇超声提取；乙醚超声，残渣乙酸乙酯回流提取；正己烷超声，残渣用乙酸乙酯回流提取；乙醇回流，滤液蒸干，残渣加 1%盐酸溶解，浓氨调 pH，用环己烷-乙酸乙酯(1：3)提取等方法。经实验发现最后一种用酸碱处理的方法底色较轻，干扰较少，能取得较好的薄层效果。

经摸索样品采用聚酰胺柱处理后，分离佳且杂质峰少。对含量测定中超声提取时间(10, 20, 30 min)、聚酰胺用量(3, 4, 5 g)、洗脱体积(50, 100, 150, 200 mL)进行比较，结果显示超声提取 10 min、聚酰胺用量 3 g、用水 100 mL 洗脱较为适宜。

REFERENCES

[1] Ch.P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版，一部) [S]. 2005: 233.

[2] ZHANG G J. Identification of Commonly Used Traditional Chinese Medicine(常用中药鉴定大全) [M]. Heilongjiang Science and Technology Press, 1993: 329, 374, 730.

[3] LV W Q. TLC of Traditional Chinese Medicine in Chinese Patent Medicine (中成药中的药材薄层色谱鉴别) [M]. Beijing People's Health publishing Huse, 1997.

[4] MENG M, SUN L H, LI N. Determination of paeoniflorin in Yudai pill by HPLC [J]. Qilu Pharm Aff(齐鲁药事), 2007, 26(6): 344-345.

[5] GUI S Y, ZHOU Y Q, XU H, et al. Determination of paeoniflorin in Xuefuzhuyu decoction by RP-HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2006, 12(11): 12-14.