糖尿乐浓缩丸质量标准研究

★ 谢青 （江西汇仁药业有限公司 南昌 330052）
★ 廖斌 刘月庆 （上海中创医药科技有限公司 上海 201203）

摘要：目的：建立糖尿乐浓缩丸质量标准。方法：采用TLC法对糖尿乐浓缩丸中的红参、葛根、黄芪、五味子进行定性鉴别；采用HPLC测定葛根中葛根素的含量。结果：薄层斑点清晰，专属性强。含量测定中葛根素在0.080 68～1.613 6 μg范围内呈良好的线性关系，r=1.000；平均回收率为100.5%，*RSD*为2.72%。结论：方法简便可行，重现性好，可用于该制剂的质量控制。

关键词：糖尿乐浓缩丸；红参；葛根；黄芪；五味子；葛根素；TLC；HPLC
中图分类号：TQ 460.6 **文献标识码**：A

糖尿乐浓缩丸是有糖尿乐胶囊改剂而得，由天花粉、山药、黄芪、红参 、五味子、葛根等13味药组成，具有滋阴补肾，益气润肺，和胃生津、调节代谢机能等功效，用于消渴症引起的多食、多饮、多尿，四肢无力等症。原标有天花粉、山药显微鉴别，在本品改剂时对黄芪、红参、地黄、知母、天冬、山茱萸、葛根、五味子、枸杞、茯苓进行了薄层鉴别研究，结果增加了黄芪、葛根、红参、五味子的薄层鉴别方法；但地黄、知母、天冬、山茱萸、枸杞、茯苓薄层鉴别研究结果未找到特征斑点或阴性存在干扰，有待于进一步研究。同时用高效液相色谱法测定了葛根素的含量，并进行了方法学研究。通过对上述质量标准提高的研究，大大提高了本品质量的可控性。

1 仪器、试药与药品

Agilent1100高效液相色谱仪，薄层预制板（青岛海洋化工有限公司）；CQ-250超声波清洗器（上海船舶电子设备研究所）；定量毛细管（美国Drummond公司），Simplicity™个人型超纯水系统（Millipore公司）；层析缸（200×200 mm、200×100 mm、100×100 mm上海信谊玻璃仪器厂）。

葛根素对照品（含量测定用，批号：110752-200209），黄芪甲苷对照品（含量测定用，批号：0781-200304），知母对照药材（批号：121070-200002），五味子对照药材（批号：120922-200304），人参Rg1对照品（批号：110703-200424），人参Re对照品（批号：110754-200320），人参Rb1对照品（批号：110704-200420），均由中国药品生物制品检定所提供，甲醇为色谱纯，其他试剂为分析纯。

糖尿乐浓缩丸（上海中创医药科技有限公司生产，批号为：20040725，20040726，20040727），阴性样品（按处方药味除去被测药材，其余按生产工艺制成）。

2 方法与结果

2.1 鉴别

2.1.1 *红参的薄层鉴别* 取本品20 g，研细，加三氯甲烷100 mL，回流1小时，滤过，滤液备用，滤渣挥干三氯甲烷，加甲醇100 mL回流提取1小时，滤过，滤液蒸干，残渣加水40 mL使溶解，用水饱和的正丁醇振摇提取3次，每次30 mL，合并正丁醇液，用3倍的氨试液洗涤，弃去氨试液，正丁醇液蒸干，残渣加适量甲醇溶解，平均分成两份，一份备用，另一份加于中性氧化铝柱（100～120目，5 g，内径10～15 mm）上，用40%甲醇100mL甲醇洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇1 mL使溶解，作为供试品溶液。另取人参皂甙Rb1 、人参皂甙Rg1对照品，分别加甲醇制成每1 mL含1mg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VIB）试验，吸取供试品溶液5 μL对照品溶液2 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（65∶35∶10）下层液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10%的硫酸乙醇溶液，105 ℃加热至斑点显色清晰，分别置日光及紫外光灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。红参阴性样品对试验无干扰。

2.1.2 *葛根的薄层鉴别* 取本品，研细，称取约8 g，加甲醇30 mL冷浸1小时，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇1 mL溶解，作为供试品溶液，另取葛根素对照品，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VIB）试验，吸取供试品溶液5 μL和对照品溶液2 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（65∶35∶10）下层液为展开剂，展开，取出，晾干，在紫外光灯（365 nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。葛根阴性对试验无干扰。

2.1.3 *黄芪的薄层鉴别* 取2.1.1项下备用甲醇溶液，浓缩至约1 mL作为供试品溶液。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VIB）试验，吸取供试品溶液和对照品溶液各5 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（65∶35∶10）下层液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10%的硫酸乙醇溶液，105 ℃加热至斑点清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；再置于紫外光灯（365 nm）下检视，供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

2.1.5 *五味子的薄层鉴别* 取2.1.1项下的备用三氯甲烷溶液，用1%的氢氧化钠溶液50 mL洗涤，弃去氢氧化钠溶液，将三氯甲烷液蒸干 ，残渣加甲醇1 mL使溶解，作为供试品溶液。另取五味子对照药材1 g，用水煎煮两次，合并水液，用20 mL三氯甲烷振摇提取，弃去水液，三氯甲烷提取液用1%的氢氧化钠溶液20 mL洗涤，弃去氢氧化钠溶液，将三氯甲烷提取液蒸干，残渣加甲醇1 mL使溶解，作为对照药

江西中医药 http://www.ajutcm.com

材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液 30 μL 和对照药材溶液 5 μL,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(6∶4)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,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。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件[2] 色谱柱:Waters symmetry C_{18} 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(20∶80);检测波长 250 nm,柱温30 ℃,流速 1.0 mL·min^{-1}。

2.2.2 系统适用性试验 在以上条件下,葛根素与其它相邻组分均能很好地达到基线分离,理论板数按葛根素峰计算不低于 4000。且缺葛根的阴性对照在相同保留时间下无吸收峰,说明用此条件可行。

2.2.3 试验方法 (1)对照品溶液的制备。取葛根素对照品适量,精密称定,加 30%乙醇制成 1 mL 含 40 μg 的溶液,即得。

(2)供试品溶液的制备。取本品 40 丸,研细,取粉末 4.0 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 30%乙醇 50 mL,密塞,称定重量,超声提取 30 分钟(200W,40kHz),放冷至室温,用 30%乙醇补足减失重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 um)滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

(3)阴性样品的制备。按糖尿乐丸(浓缩丸)制备方法制备缺葛根阴性样品。按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

(4)测定方法。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。

2.2.4 流动相选择 参照《中国药典》2000 年版一部葛根药材标准含量测定项下的测定条件,结果:甲醇-水(25∶75)主峰保留时间 9 分钟,相邻峰未完全分离;甲醇-水(20∶80)主峰保留时间 18 分钟,相邻峰完全分离;以上结果表明流动相为甲醇-水(20∶80)色谱峰分离度好,保留时间适中。故选择甲醇-水(20∶80)作为流动相。

2.2.5 样品处理方法的选择 (1)提取溶剂的选择。采用超声提取方法,比较以甲醇、75%乙醇、30%乙醇为提取溶剂的提取效果,结果显示,采用 30%乙醇超声提取色谱峰形好,能与杂质峰分离提取得更完全。

(2)提取方法的选择。分别采用乙醇超声和回流的方法,比较提取的效果,结果见表 1。结果显示,超声和加热回流 2 种方法结果相差很小,而超声法更加简便。为此,选择超声提取法,结果见表 1。提取溶剂用量结果见表 2。

表 1 提取方法的选择

提取	结果/mg·g^{-1}
30%乙醇加热回流 30 分钟	0.655
30%乙醇超声 30 分钟	0.707

表 2 提取溶剂剂量

超声提取	结果/mg·g^{-1}
30%乙醇 40 mL	0.45
30%乙醇 50mL	0.52
30%乙醇 60mL	0.53

结果显示,用 30%乙醇 50 mL 提取样品中葛根素已提取完全。

2.2.6 线性关系的考察 精密称取对照品适量制成含量为 80.68 μg·mL^{-1} 的对照品溶液,分别精密吸取上述对照品溶液 1、2、5、10、20 μL 注入液相色谱仪,测定,记录峰面积积分值。以葛根素对照品浓度(X)对峰面积积分值(Y)绘制标准曲线,并进行回归,计算标准曲线的回归方程及相关系数。得回归方程为 $Y=4\,639.507\,2X-1$,$R^2=1.000$。结果表明:葛根素在 0.080 68~1.613 6 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 取 40.34 μg·mL^{-1} 的葛根素对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,计算葛根素峰面积的 RSD 为 0.79%。

2.2.8 溶液的稳定性试验 取 40.34 μg·mL^{-1} 的葛根素对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,在 12 小时内每隔一段时间测定一次峰面积积分值,共测 5 次,结果 RSD 分别为 0.45%,1.72%。表明葛根素在 12 小时内稳定。

2.2.9 重复性试验 分别取本品同一批号样品 5 份,照供试品溶液的制备方法制备并依法进样测定,结果 RSD 为 2.0%。

2.2.10 加样回收率试验 分别取本品同一批号样品 6 份,每份 2.0 g,精密称定,分别加入葛根素对照品 1.5 mg,按供试品溶液的制备方法制备,测定并计算回收率,结果平均加样回收率为 100.5%,RSD 为 2.72%($n=6$)。

2.2.11 供试品的含量测定 依法对自制的 5 批样品进行了含量测定,结果见表 3。

表 3 5 批样品含量测定结果

批号	含量/mg·g^{-1}	批号	平均值/mg·g^{-1}
20040725	0.70	20040903	0.64
20040726	0.70	20040904	0.69
20040727	0.70	20051217	0.81
20040901	0.63	20051218	0.81
20040902	0.76	20051219	0.80

3 讨论

原标准没有薄层鉴别,本研究中糖尿乐浓缩丸薄层鉴别均为首次研究建立。其中人参主含人参皂苷成分,故选择人参皂苷 Rb_1、Rg_1、Re 作为人参药材的鉴别成分;葛根主要含有大豆苷、大豆苷元及葛根素等黄酮类化合物,葛根素较易溶出,为避免其他杂质成分干扰,采用甲醇冷浸 1 小时提取即可;黄芪药材以其主要有效成分黄芪甲苷作为鉴别成分,在 105 ℃显色的时间不宜过长,显色清晰即可,以免因某些物质被氧化而造成干扰。以上三味药均采用三氯甲烷-甲醇-水(65∶35∶10)下层液为展开剂,结果表明分离效果均较为理想;五味子药材的鉴别分别采用了石油醚(30~60 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)上层液和以甲苯-乙酸乙酯(6∶4)为展开剂展开,经多次试验表明采用后者作为展开剂分离度更好。

(收稿日期:2006-11-28)

江西中医药 Jiangxi Journal of Traditional Chinese Medicine
http://www.ajutcm.com