

HPLC 法测定糖尿乐胶囊中葛根素的含量

★ 王丽静 利家平 (江西省药物研究所 南昌 330029)

摘要:目的:建立糖尿乐胶囊的含量测定方法。方法:采用十八烷基硅烷键合硅胶柱(Hypersil BDS, 5 μ m, 4.6 mm $\times$ 200 mm);流动相:甲醇-水(25:75);流速 1 mL/min;检测波长 250 nm。结果:葛根素进样量在 0.084 0 μ g ~ 0.700 0 μ g 范围内线性关系良好 $r=0.999\ 9$ ($n=5$);平均加样回收率为 100.05%, RSD 为 1.70% ($n=6$)。结论:本方法操作简便、快速、准确;可以作为糖尿乐胶囊的含量测定方法。

关键词:糖尿乐胶囊;葛根素;含量测定;HPLC

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**B

糖尿乐胶囊为《中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂》第 13 册收载的品种^[1],为治疗糖尿病常用的中药复方制剂。由葛根、红参、山药、天花粉、鸡内金、生地、黄芪、山茱萸、枸杞、五味子、知母、天冬、茯苓等十三味药材组成。功能:滋阴补肾,益气润肺,和胃生津,调节代谢机能。用于消渴症引起的多食、多饮、多尿,四肢无力等症,降低血糖、尿

值的 RSD 为 0.54%。

2.5 精密度试验 精密称取同一批号样品 5 份,照上述含量测定法测定含量,维生素 B₁ 含量 $RSD=0.20\%$,维生素 B₂ 含量 $RSD=1.7\%$,维生素 B₆ 含量 $RSD=0.48\%$ 。

2.6 溶液稳定性考察 取同一份样品溶液,分别于 0、2、4、6、8 小时进行测定,精密量取不同时间的溶液进样,测得维生素 B₁ 峰面积 $RSD=0.22\%$,维生素 B₂ 峰面积 $RSD=0.18\%$,维生素 B₆ 峰面积 $RSD=0.05\%$ 。结果表明,样品溶液 8 小时内稳定。

2.7 方法专属性试验 通过对主成分及降解产物按上述 HPLC 法进行分离检测,结果表明采用上述 HPLC 法测定维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 含量的方法专属性良好。另取其他原料及辅料适量,按处方配成空白溶液,同法操作,结果表明,其他原辅料对该三组份含量测定无干扰。

2.8 方法定量限 三种组分用同一系统进行测定,在选定的色谱条件下,以基线噪音的 10 倍为最低定量限。维生素 B₁ 的定量限为 25.53 ng,维生素 B₂ 的定量限为 7.56 ng,维生素 B₆ 的定量限为 3.98 ng。

糖。原标准中只有定性鉴别,无含量测定项。为了更好的控制本品质量,本文采用 HPLC 方法测定了处方中主要成分葛根中葛根素的含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:大连依利特 P200 II 高压恒流泵,UV200 II 紫外可变波长检测器,HW-2000 型色谱工作站;葛根素对照品:购于中国药品生物制品检定

2.9 方法回收率考察 分别精密称取维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 对照品适量,同时按处方比例加入其它组份及辅料制成含量测定浓度的 80%、100%、120% 溶液各三份,另取维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 对照品同法制成对照品溶液。分别精密量取上述溶液 20 μ L,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以各自对应的峰面积计算含量测定方法回收率。结果维生素 B₁ 平均回收率为 99.8% ($RSD=0.52$, $n=9$);维生素 B₂ 平均回收率为 99.6% ($RSD=0.44$, $n=9$);维生素 B₆ 平均回收率为 100.3% ($RSD=0.49$, $n=9$)。

2.10 样品含量测定结果 按上述含量测定方法测定三批复方维生素咀嚼片样品中维生素 B₁、维生素 B₂ 及维生素 B₆ 的含量,结果见表 1。

表 1 维生素 B₁、B₂ 及 B₆ 含量测定结果/ $g \cdot 100g^{-1}$

批号	080813	080820	080911
维生素 B ₁	128.9	128.4	127.6
维生素 B ₂	62.22	65.1	64.7
维生素 B ₆	124.8	135.2	134.4

(收稿日期:2008-12-08 责任编辑:查青林)

所,供含量测定用,编号 752-200108;甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

用大连依利特 Hypersil BDS C_{18} 5 μm 柱(4.6 mm $\times$ 200 mm),以甲醇-水(25:75)为流动相,检测波长为 250 nm,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,流速 1.00 mL/min,将葛根素对照品、供试品、阴性对照溶液分别注入液相色谱仪,葛根素峰保留时间约为 8 分钟,理论板数按葛根素峰计约为 6 000,阴性对照溶液无干扰。

2.2 测量方法

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取葛根素对照品适量,置棕色量瓶中,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 粒,精密称定,研细,取 1.6 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 60 分钟,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 测定法 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,测定,即得。

2.3 检测波长的选择

中国药典 2000 年版一部葛根药材含量测定项下,葛根素检测波长为 250 nm^[2]。取葛根素对照品溶液进行紫外(200~400 nm)扫描,测得最大吸收峰为 250 nm。经试验,检测波长在 250 nm 时,杂质峰干扰少,灵敏度高,重复性较好,因此采用 250 nm 作为检测波长。

2.4 流动相的选择

用甲醇-水(23:77)作流动相,供试品中的葛根素峰分离效果不好;改用甲醇-水(27:73)作流动相,葛根素峰与相邻杂质峰分不开;调整流动相中甲醇和水的配比,改用甲醇-水(25:75)作流动相,保留时间约 8 分钟,葛根素峰与相邻杂质峰的分离度符合要求。因此,确定甲醇-水(25:75)作为流动相。

2.5 标准曲线的制定

精密称取葛根素对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 280 μg 的溶液。精密吸取该溶液 0.3、0.6、1.0、1.5、2.5 mL 分别置于 10 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得葛根素系列对照品溶液。分别吸取上述系列对照品溶液 10 μL ,注入高效液相色谱仪测定峰面积,以葛根素进样量为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 2\,838\,000X - 5380$,相关系数 $r = 0.999\,9$,结

果表明葛根素进样量在 0.084 0~0.700 0 μg 范围内进样量与峰面积有良好的线性关系。

2.6 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 10 μL ,注入液相色谱仪,连续进 6 次样,对照品溶液峰面积的 RSD 为 0.85%。

2.7 样品稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:20040402),在不同时间进样测定,结果 RSD 为 0.91%,表明样品在 12 小时内稳定。

2.8 重复性试验

取同一批号(20040401)样品,照上述方法制备 6 份供试品溶液,依法测定,测得平均含量为 1.002 mg/g, RSD 为 1.36%。

2.9 加样回收试验

精密称取已知含量的样品(批号:20040401,葛根素含量 1.002 mg/g)适量,六份,精密加入一定量的葛根素对照品溶液,按正文中含量测定方法测定,计算得平均回收率为 100.05%, RSD 为 1.70%。

2.10 样品测定

取本品 10 粒,精密称定,取内容物研细,取 1.6 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 60 分钟,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。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,测定,即得。按上述测定方法分别测定 3 批样品(20040301,20040302,20040303),结果每粒含葛根素分别为 0.429 8,0.462 4,0.428 4 mg。

3 讨论

在流动相的选择过程中,经过对多种配比的流动相(甲醇-水)进行比较实验,我们发现用甲醇-水(25:75)作流动相,保留时间约 8 分钟,葛根素峰与相邻杂质峰的分离度符合要求,因此,确定甲醇-水(25:75)作为流动相。选择处方中的主要成分葛根素中的葛根素作为控制本制剂质量标准的含测指标,经方法学考察,本法简便、准确、可靠,能有效控制制剂的质量。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药政局. 中华人民共和国卫生部药品标准[J]. 中药成方制剂,第 13 册
- [2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2000 版一部[M]. 北京:化学工业出版社,2000:273-274

(收稿日期:2008-10-20 责任编辑:曹征)