

· 研究报告 ·

甘地胶囊中马钱苷含量测定方法的优化

魏昕¹, 徐人杰¹, 唐英², 姚憬², 徐阿晶¹, 张健¹ (1. 上海交通大学医学院附属新华医院药学部, 上海 200092; 2. 上海方心制药科技有限公司, 上海 200120)

[摘要] 目的 建立 HPLC 法测定甘地胶囊中马钱苷的含量。方法 色谱柱为 Waters Symmetry C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(13:87); 流速 1.0 ml/min; 检测波长 240 nm。结果 马钱苷对照品在 0.030 1~3.01 μg 范围内呈良好的线性关系($r=0.9999$), 平均加样回收率为 99.62%, RSD 为 0.86%。结论 本方法简便、准确, 重复性好, 可用于甘地胶囊中马钱苷的含量测定。

[关键词] 甘地胶囊; 马钱苷; 含量测定; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2018)06-0551-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.016

Optimization of assay method for loganin in Gandi capsules

WEI Xin¹, XU Renjie¹, TANG Ying², YAO Huan², XU Ajing¹, ZHANG Jian¹ (1. Department of Pharmacy, Xinhua Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200092, China; 2. Shanghai Fangxin Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 200120, China)

[Abstract] **Objective** To establish a HPLC method for the assay of loganin in Gandi capsules. **Methods** The Waters Symmetry column C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water (13:87) as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength at 240 nm. **Results** The calibration curves were linear within the range of 0.030 1-3.01 μg ($r=0.9999$) for loganin. The average recovery and relative standard deviation of loganin were 99.62% and 0.86%. **Conclusion** This method is simple, practicable, accurate and fast. It can be used to assay loganin in Gandi capsules.

[Key words] Gandi capsule; loganin; assay; HPLC

甘地胶囊(Gandi capsule)为新华医院自制制剂(批准文号:沪药制字 Z04180947;委托上海蔡同德堂中药制药厂生产)。本处方由黄芪、黄芩、地黄、山茱萸、余甘子、益母草、僵蚕、槐米(炭)等八味中药组成,生地黄、生黄芪和山茱萸肉为本方君药,三者合用,降血糖和降血糖之力加强,滋阴益气降糖;益母草为本方臣药,活血、利毒;黄芩以泻火降压为主,槐花以凉血降压为要,两药伍用,治疗高血压、动脉硬化效果显著;僵蚕、黄芩、槐花三药合用,清热祛痰燥湿,同为本方佐药;余甘子清热凉血,开窍祛痰,在本方中为使药。甘地胶囊有清热滋阴、活血祛痰、化痰解郁和益气通络之功效,用于治疗糖尿病引起的血管病变及糖尿病的辅助治疗,临床疗效满意^[1-3]。新

华医院的临床试验也证明甘地胶囊辅助治疗糖尿病肾病疗效较好,且未见明显不良反应^[4]。

甘地胶囊中指标成分的含量及纯度与药品质量和功效紧密相关^[5,6]。为了提高甘地胶囊的质量控制标准,特别是判定山茱萸投料的准确性,参照《中华人民共和国药典(一部)》(2015年版)山茱萸含量测定项下马钱苷、莫诺苷的含量测定方法,对甘地胶囊中的马钱苷、莫诺苷含量测定方法进行研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 高效液相色谱仪(四元泵、真空脱气泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、HP 数据处理工作站)。

1.2 药品与试剂

马钱苷(批号:111640-200604,中国食品药品检定研究院);甘地胶囊供试品(0.3 g/粒,批号:20161202、20161203、20161204,上海方心制药科技有限公司);甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司);其余试

[基金项目] 上海市科委项目(15401901600;16401900500)

[作者简介] 魏昕,硕士,主管药师,研究方向:临床药学,Email: weixin@xinhuaemed.com.cn

[通讯作者] 张健,主任药师,研究方向:临床药学与临床药理, Tel:(021)25077150, Email:zhangjian@xinhuaemed.com.cn

剂均为分析纯,购自中国医药(集团)上海化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 色谱条件

选用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);参照《中国药典》(2015 年版)一部山茱萸含量测定项下马钱苷的含量测定方法,流动相为乙腈-水(13:87);流速 1.0 ml/min;检测波长 240 nm。理论板数按马钱苷峰计算应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取马钱苷对照品适量,加甲醇,制成浓度为 3.01 mg/ml 的储备液,精密吸取储备液适量,加入甲醇制成浓度为 3.01 μg/ml 的对照品溶液。

3 结果

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 波长的选择

经二极管阵列检测器进行紫外光谱比较,马钱

苷对照品在 240 nm 波长处有最大吸收,供试品色谱图中马钱苷的紫外光谱图与对照品的紫外光谱图一致。

3.1.2 流动相比例的选择

乙腈-0.4% 磷酸(《中国药典》方法,梯度洗脱程序),马钱苷出峰时间在 28 min,但峰不纯,有杂峰混入;乙腈-水(15:85),马钱苷出峰时间在 3 min,出峰时间过快;乙腈-水(13:87),马钱苷出峰时间在 6 min,分离度达到要求,前后无干扰。

应用所建立的方法,供试品溶液中的马钱苷得到了良好的分离,同时,基质不影响马钱苷的测定(图 1)。

3.2 提取条件的选择

分别比较提取的溶剂、方法及时间,确定供试品溶液的制备方法:取装量差异下的本品内容物,研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 25 ml,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液即得。阴性对照无干扰。

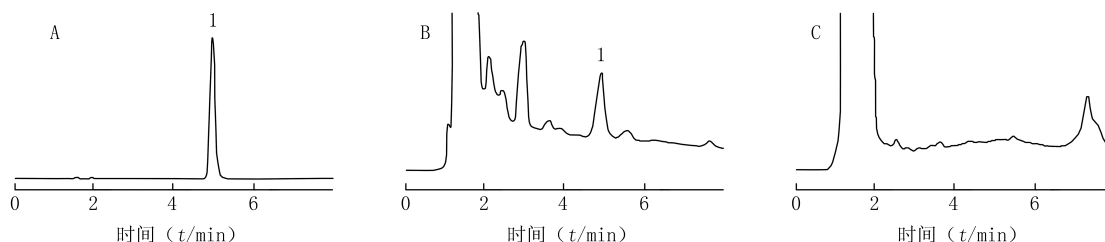


图 1 甘地胶囊中马钱苷的 HPLC 图

A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 马钱苷

3.3 线性关系考察

精密称取马钱苷对照品适量,加 80% 甲醇制成浓度为 0.301 mg/ml 的储备液,精密吸取储备液适量,加入 80% 甲醇制成浓度为 30.1 μg/ml 的对照品溶液,分别精密吸取对照品溶液 1、2、5、10 μl,储备液 2、5、10 μl,分别注入液相色谱仪,测得峰面积。以进样量 C(μg)为横坐标,峰面积 A 为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $A = -2.3429 + 1703.2056 \times C$,相关系数 $r = 0.9999$,马钱苷对照品在 0.0301~3.01 μg 范围内呈良好的线性关系。

3.4 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μl(30.1 μg/ml),重复进样 6 次,测定峰面积,结果显示,马钱苷峰面积的 RSD 为 0.30%,表明该法精密度良好。

3.5 溶液稳定性

精密称取甘地胶囊(批号:20161202),按供试品溶液的制备方法制备,于 0、2、4、6、8、24 h 进样,测定峰面积,结果显示马钱苷峰面积的 RSD 为 0.37%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

3.6 重复性试验

精密称取甘地胶囊(批号:20161202),按供试品溶液的制备方法制备和测定,重复测定 6 次,根据标准曲线计算马钱苷含量,结果显示马钱苷的 RSD 为 0.30%。

3.7 回收率试验

精密称取已知马钱苷含量的甘地胶囊(批号:20161202,含量为 0.0786%)0.5 g,平行操作 6 份,置锥形瓶中,精密加入马钱苷对照品溶液(0.319 mg/ml)3.0 ml 各 6 份,加 80% 甲醇适量,按照供试品制备方法制备。取续滤液,测定峰面积,计

算回收率,结果马钱苷的加样回收率为99.62%, RSD为0.86%。结果见表1。

表1 马钱苷加样回收率试验结果(n=6)

取样量 (m/mg)	样品含量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
0.5012	0.3939	0.4515	0.8412	99.06	98.73	0.57
0.5065	0.3981	0.4515	0.8421	98.35		
0.5018	0.3944	0.4515	0.8398	98.65		
0.5023	0.3948	0.4515	0.8448	99.66		
0.5035	0.3958	0.4515	0.8386	98.08		

3.8 样品含量测定

根据建立的马钱苷含量测定方法,对3批甘地胶囊(规格:0.3g/粒)进行含量测定,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

批号	马钱苷含量 (mg/粒)	RSD (%)
20161202	0.234	1.26
20161203	0.243	2.12
20161204	0.245	1.85

4 讨论

在本研究的预实验中,笔者曾尝试用不同流动相比例同时考察马钱苷和莫诺苷2种化合物的HPLC含量测定方法,包括采用乙腈-0.4%磷酸梯度洗脱(药典方法)、乙腈-水(15:85)、乙腈-水(13:87)和乙腈-水(10:90),但发现使用上述方法,供试品中莫诺苷的峰形均不理想,考虑莫诺苷峰中可能有杂质干扰,本实验只建立马钱苷的含量测定方法。因此综合考虑,采用乙腈-水(13:87)流动相配比时,满足分析要求。

为了使马钱苷提取更为完全,且山茱萸药材中通常选用80%甲醇为提取溶剂,因此本研究重点选用50%甲醇、80%甲醇、甲醇对提取溶剂进行考察。同时综合药材制备方法及甘地胶囊的得率,选择1.0g的取样量及25ml的溶剂量超声30min进行实验。对甘地胶囊(批号:20161202)中马钱苷的提取率进行考察,结果见表3,通过对提取溶剂的比较,选择80%甲醇为最佳提取溶剂。

表3 不同优化条件含量测定结果比较

提取条件	马钱苷含量 (%)
溶剂	
甲醇	0.0771
50% 甲醇	0.0774
80% 甲醇	0.0785
方法	
超声 30 min	0.0785
回流 30 min	0.0785
时间(超声)	
15 min	0.0774
30 min	0.0785
45 min	0.0793

由于提取山茱萸药材选用的是回流法,考虑到甘地胶囊已经经过提取步骤,考虑增加超声提取的方法进行比较(表3),通过对提取方法的比较,两种方法所得的马钱苷含量相近,选择超声法作为提取方法效率更高、操作简便。

根据3批甘地胶囊中马钱苷的含量测定结果,以其平均含量的80%,暂定本品每粒含山茱萸以马钱苷(C₁₇H₂₆O₁₀)计,不得少于0.19mg。今后将通过数据的积累完善甘地胶囊中马钱苷的含量限度。

本研究采用HPLC法测定甘地胶囊中马钱苷的含量,经方法学考察,该方法准确、灵敏、简便、快速,可作为甘地胶囊质量控制的指标之一。

【参考文献】

- [1] 朱伟嵘,杨永华,郑 岚,等. 甘地胶囊对糖尿病血瘀证治疗作用的临床观察[J]. 中华现代中西医杂志, 2005, 3(13):1153-1156
- [2] 晁 愚,张 昕. 甘地胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2007, 29(3):469-470.
- [3] 曹含弘. 前列地尔联合甘地胶囊治疗早期糖尿病肾病疗效观察[J]. 山东医药, 2013, 53(24):80-81.
- [4] 魏 昕,姚慧娟,刘 艳,等. 甘地胶囊辅助治疗糖尿病肾病的疗效观察[J]. 中国药房, 2016, 27(2):225-227.
- [5] 唐跃年,凌启迪,肖 敏,等. 甘地胶囊指纹图谱分析及指标成分含量测定[J]. 中国临床药学杂志, 2013, 22(5):299-303.
- [6] 李逸飞,马婉婷. 甘地胶囊指纹图谱分析及指标成分含量测定[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(17):147-148.

【收稿日期】 2018-06-01 【修回日期】 2018-09-10

【本文编辑】 李睿旻