

齐墩果酸滴丸的质量标准研究

李祥*, 梁颖#, 杨新建(天津市中医药研究院附属医院, 天津 300120)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2994-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.32

摘要 目的:建立齐墩果酸滴丸的质量标准。方法:鉴别制剂性状,检测制剂重量差异、溶散时限;采用超高效液相色谱法测定制剂中齐墩果酸的含量;色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C₁₈,流动相为乙腈-水(70:30, V/V),流速为0.30 mL/min,检测波长为206 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μL。结果:制剂鉴别特征明显,九重差异为37.62%~46.56%,溶散时间均为24 min。齐墩果酸检测质量浓度线性范围为0.006~0.06 mg/mL($r=0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率为99.34%~100.40%(RSD=0.4%, $n=6$)。结论:该研究所建标准可用于齐墩果酸滴丸的质量控制。

关键词 齐墩果酸滴丸;超高效液相色谱法;齐墩果酸;质量标准

Study on Quality Standard of Oleanolic Acid Dripping Pills

LI Xiang, LIANG Ying, YANG Xinjian(The Affiliated Hospital of Tianjin Academy of TCM, Tianjin 300120, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Oleanolic acid dripping pills. METHODS: The property of the preparation was identified, and weight difference and dissolution time limit were detected. UPLC method was adopted to determine the content of oleanolic acid in the preparation. The determination was performed on ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (70:30, V/V) at the flow rate of 0.30 mL/min. The detection wavelength was set at 206 nm, the column temperature was 30 ℃, and the sample was 5 μL. RESULTS: The characteristics of the preparation was significant; weight difference ranged 37.62%-46.56%; dissolution time limit was 24 min. Linear range of oleanolic acid ranged 0.006-0.06 mg/mL ($r=0.999\ 8$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2.0%. The recoveries were 99.34%-100.40% (RSD=0.4%, $n=6$). CONCLUSIONS: Established standard can be used for quality control of Oleanolic acid dripping pills.

倍半萜(12.99%);而果实中成分比较多样,主要成分含量差距不大,分别为石竹烯(12.61%)、 γ -毕澄茄烯(9.90%)和紫穗槐烯(8.15%)。对于根中检测到的成分,有15个在果实中未检测到,占根中挥发油总量的25.30%;对于果实中检测到的成分,有28个在根中未检测到,占果实中挥发油总量的28.50%。并且,两者共有的9个成分中,含量的高低也存在明显的不同。

3 讨论

本试验采用GC-MS对红木香药材根和果实的挥发油成分进行了分析,并采用峰面积归一化法计算各成分相对含量。通过质谱库检索,结合图谱解析,共鉴定出52个化合物。

中药的不同入药部位,通常化学成分亦不同^[7],如长梗南五味子的不同部位中挥发油成分通常有明显差别^[8-9]。红木香药材根与果实挥发油的主要成分及其含量同样存在差异,这很可能是两者在民间按不同的功效供药用的原因之一。红木香在福建乃至中国南方分布较多,民间应用较为广泛,其有效成分值得深入探究,其开发应用前景值得期待。

* 主管药师。研究方向:医院制剂研发。电话:022-27285099

通信作者:主任药师。研究方向:医院制剂研发。E-mail:changzhengyj@sina.com

参考文献

- [1] 钟隐芳.福安畲医畲药[M].福州:海风出版社,2010:261.
- [2] 钟雷兴.闽东畲族文化全书:医药卷[M].北京:民族出版社,2009:166.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].1977年版.北京:化学工业出版社,1977:396.
- [4] Song L, Ding JY, Tang C, et al. Compositions and biological activities of essential oils of *Kadsura longepedunculata* and *Schisandra sphenanthera*[J]. *Am J Chin Med*, 2007, 35(2):353-364.
- [5] 黄泽豪,范世明.红木香中两个7,8位开环型木脂素的结构鉴定[J].时珍国医国药,2012,23(5):1226-1227.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:203.
- [7] 徐玉琴,王志辉,周日宝,等.HPLC法测定广升麻植株中不同部位蜕皮甾酮的含量[J].中国药房,2016,27(15):2147-2149.
- [8] 田恒康,闫文玫,马冠成.长梗南五味子根皮挥发油的研究[J].中国中药杂志,1993,18(3):165-166.
- [9] 徐新刚,葛平亮,张晶.紫荆皮挥发油化学成分分析[J].中国医药学刊,2005,23(9):1703.

(收稿日期:2016-09-01 修回日期:2016-11-30)

(编辑:张静)

齐墩果酸是一种五环三萜类化合物,以游离或糖苷形式广泛存在于世界各地的植物中^[1]。经检测,山茱萸、山楂、女贞子、木瓜、乌梅、连翘、石榴皮、柿蒂、夏枯草等119种植物中均含有齐墩果酸^[2];该成分常用检测方法为薄层扫描法、高效液相色谱法(HPLC)、超高效液相色谱法(UPLC)等^[3-8]。我院自行研制了齐墩果酸滴丸,并按照2015年版《中国药典》要求制定了质量标准,以期齐墩果酸滴丸的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

ACQUITY I 型 UPLC 仪,包括紫外检测器(美国 Waters 公司);AG285 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);KE-100E 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:40 kHz);WD08-1 型全自动滴丸机(天津市昂大科技发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

齐墩果酸滴丸(天津市中医药研究院附属医院制剂室自制,批号:20151211、20151225、20160105,规格:3 mg/丸);齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:20140406,纯度:≥98.5%);聚乙二醇-4000、二甲硅油均为药用规格,甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别(齐墩果酸)

取样品10丸,加醋酐2 mL,水浴加热使溶解,振荡,加硫酸3滴,即显紫红色;取样品10丸,加三氯甲烷5 mL,水浴加热使溶解,加硫酸5滴,即显橙红黄色至橙红色;取样品5丸,加香草醛冰醋酸液(取香草醛0.5 g,加冰醋酸10 mL使溶解,即得)0.5 mL,加高氯酸1 mL,水浴加热使溶解,溶液显紫色。

2.2 检查

2.2.1 重量差异 按2015年版《中国药典》(四部)“通则0108”项下^[9]要求检查3批样品(每批20丸)重量差异,详见表1。结果表明,3批样品重量差异在±10%范围内,符合规定。

2.2.2 溶散时限 按2015年版《中国药典》(四部)“通则0108”项下^[9]要求检查3批样品(每批6丸)的溶散时限,详见表2。结果表明,3批样品溶散时限均为24 min(<30 min),符合规定。

表1 重量差异测定结果

Tab 1 Results of weight difference determination

批号	平均质量,mg/丸	质量范围,mg	差异范围,%
20151211	42.144	40.94~44.08	37.93~46.36
20151225	41.796	39.77~43.73	37.62~46.10
20160105	42.331	39.12~43.99	39.10~46.56

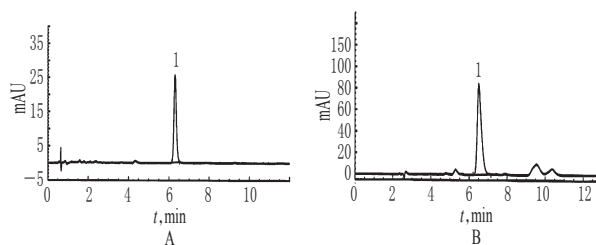
表2 溶散时限检查结果

Tab 2 Results of dissolution time limit

批号	溶散时间,min	结果
20151211	24	符合规定
20151225	24	符合规定
20160105	24	符合规定

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:乙腈-水(70:30, V/V);流速:0.30 mL/min;检测波长:206 nm;柱温:30 ℃;进样量:5 μL。在上述色谱条件下,理论板数以齐墩果酸峰计>14 900;各成分基线分离良好,分离度>1.5,详见图1。



A.对照品; B.供试品; 1.齐墩果酸
A.substance control; B.test sample; 1.oleanolic acid

图1 超高效液相色谱图

Fig 1 UPLC chromatograms

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品12 mg,置于100 mL量瓶中,加甲醇50 mL,超声处理30 min,加甲醇定容,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取样品10丸,研细,准确称取约含齐墩果酸12 mg的细粉,置于100 mL三角瓶中,加甲醇50 mL,超声处理30 min,滤过,滤液移至100 mL量瓶中,加甲醇定容,即得。

2.3.4 线性关系考察 准确量取“2.3.2”项下齐墩果酸对照品溶液0.5、1、2、3、4、5 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇定容,制成质量浓度分别为0.006、0.012、0.024、0.036、0.048、0.06 mg/mL的系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各5 μL,按“2.3.1”项下色谱

条件进样测定,记录峰面积。以齐墩果酸质量浓度(x , mg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得齐墩果酸回归方程 $y=23\ 906x+1\ 953$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,齐墩果酸检测质量浓度线性范围为0.006~0.06 mg/mL。

2.3.5 精密度试验 取“2.3.2”项下对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,齐墩果酸峰面积的RSD为0.56%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品溶液(批号:20151211)适量,分别于室温下放置0、5、10、15、24 h时按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,齐墩果酸峰面积的RSD为1.09%($n=5$),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20151211)适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,齐墩果酸峰面积的RSD为0.58%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.3.8 回收率试验 取已知含量样品(批号:20151211)适量,共6份,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表3。

表3 回收率试验结果($n=6$)

Tab 3 Results of recovery tests($n=6$)

加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
121.0	120.9	99.91	99.85	0.40
120.6	121.1	100.40		
121.5	120.8	99.42		
121.3	121.4	100.10		
120.5	120.4	99.91		
121.7	120.2	99.34		

2.3.9 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,3批样品(批号:20151211、20151225、20160105)齐墩果酸的平均含量分别为3.029、3.002、2.927 mg/丸。

4 讨论

本研究在建立UPLC法测定齐墩果酸滴丸中齐墩果酸含量的方法时,参考文献[10],以甲醇-0.1%磷酸-三乙胺为流动相,其吸收峰有拖尾,分离效果不能满足标准制定要求。最终确定以乙腈和水作为流动相,能够在较短时间内测定,且峰形良好,无拖尾现象。同时本试验发现,UPLC的溶剂洗脱强度稍弱于HPLC。由于UPLC色谱柱填料粒径较小,流路管线较细,因此流动相和供试品溶液需经0.22 μm 微孔滤膜滤过。

综上所述,本研究建立的UPLC法特异性强、重复性好,与传统的HPLC分离方法比较,分析时间短,操作简便,灵敏度高,精密度及稳定性良好,所建标准可用于齐墩果酸滴丸的质量控制。

参考文献

- [1] 肖崇厚.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1996:447.
- [2] 李雅玲,冯威,陈航宇,等.齐墩果酸研究新进展[J].生物技术世界,2015,12(4):125-126.
- [3] 彭金年,程庚金生,李丹丹,等.薄层扫描法测定不同提取方法枇杷中齐墩果酸含量[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(6):43-45.
- [4] 李振化,赵振宇,孙浩,等.高剪切分散均质技术在齐墩果酸滴丸生产中的应用[J].山东医药,2014,54(27):34-36.
- [5] 邱金明,刘彬彬,赵婧,等.齐墩果酸5种含量测定方法的比较研究[J].西北药学杂志,2013,28(5):483-486.
- [6] 张家富,夏伦祝,汪永忠,等.HPLC法同时测定5种常见中药材中齐墩果酸和熊果酸的含量[J].中国药房,2012,23(27):2553-2554.
- [7] 沈盼盼,谢晓梅,张圣龙,等.UPLC法测定宣木瓜中齐墩果酸、熊果苷[J].南京中医药大学学报,2013,29(3):271-273.
- [8] 李元元,丁杰,李明波.超高效液相色谱法测定马鞭草中齐墩果酸的含量[J].中外医学研究,2014,12(8):152-153.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:11.
- [10] 田燕,高萌,蒋妮,等.齐墩果酸滴丸的制备及质量评价[J].大连医科大学学报,2010,32(5):521-523,538.

(收稿日期:2016-11-03 修回日期:2017-03-28)

(编辑:张 静)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅