

精气神营养素质量标准研究

李先端¹, 林淑芳¹, 张早华²

(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;

2 中国中医研究院中医药信息研究所, 北京 100700)

关键词: 人参皂苷含量测定; 薄层扫描; 硅钨酸显色剂

中图分类号: R284.2 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)03-0023-02

精气神营养素由人参和枸杞子等三味中药组成, 将上述三味药材以 45% 乙醇回流提取, 加入乳糖、糊精等辅料制成的颗粒剂, 具有强壮滋补的作用。为保证制剂的质量, 制定了定性定量的方法, 对药材和制剂进行测定, 人参皂苷 Rg1 在药材中含量为 0.24~0.40%, 制剂中为 0.94~1.0mg/g, 经计算制剂提取率在 50% 以上, 说明工艺合理, 质量可控。目前人参皂苷含量测定大多采用 10% 硫酸显色剂进行薄层扫描。本文采用硅钨酸为显色剂, 得到的色谱具有更好的分离度和清晰的斑点。从而消除了干扰, 为薄层扫描定量提供了新显色方法。该制剂已通过生产报批, 因此本标准更具实用价值。

1 仪器与试药

岛津 CS-910 型薄层扫描仪。定容毛细管 (Drummond CO)。硅胶 G 薄层板 (自制)。人参皂苷 Rg1 对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号: 0703-9812), 按本文方法点样 60μg、100μg, 纯度为 98.90%。所用药材购于北京同仁堂药材公司。试剂均为分析纯。样品由中国中医研究院中医药信息研究所提供, 批号: 980402 980502 980602。

2 鉴别^[1,2]

取本品 8g, 研细, 加 50% 乙醇 40ml, 超声处理 20min, 离心, 取上清液, 水浴蒸干, 残渣加水 20ml 使溶解, 用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 30ml, 合并乙酸乙酯液, 浓缩至 2ml, 作为供试品溶液。另取枸杞子对照药材 2g, 加 50% 乙醇 20ml, 回流提取 2h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 10ml 水使溶解, 其余同供试品操作, 制成对照药材溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取两种溶液各 8μl, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二甲苯-乙酸乙酯-甲

醇-甲酸 (4:3:0.8:0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置处, 显相同的蓝色荧光斑点。

本文用药材作对照, 同法制备的阴性样品无干扰。故认为该方法简便、可行。

3 含量测定

3.1 测定条件的建立 最大吸收波长选择: 吸取人参皂苷 Rg1 对照品溶液 6μl、供试品溶液 8μl, 分别点于点于同一硅胶 G 薄层板上, 显色后, 于可见光范围内进行扫描, 测得 $\lambda = 526\text{nm}$, $\lambda_k = 700\text{nm}$ 。

展开剂选择: 曾试用药典人参项下的氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水 (15:40:22:10) 及文献^[3]中氯仿-甲醇-水 (65:35:10) 等作为展开剂, 结果均不理想。最后发现, 以正丁醇-乙酸乙酯-水 (4:1:5) 为展开剂分离度好, 干扰少, 利于定量分析。

显色剂选择: 药典及文献报道, 人参皂苷的薄层鉴别及定量大都采用 10% 硫酸为显色剂, 也有用甲氧基苯甲醛显色剂^[4]的, 经过试验比较, 10% 硫酸显色剂显色范围广泛, 在供试品色谱斑点之间有污染带, 不利于 Rg1 的薄层扫描。经文献查阅和多次试验, 结果确定以 10% 硅钨酸乙醇溶液作为本制剂的显色剂, 显色后, 供试品色谱中呈现多个红色斑点, 背景无色泽干扰, 被测斑点扫描峰对称, 与相邻峰分离度良好。但本显色剂以临用时新鲜配制, 效果更好, 显色的薄板立即用洁净的玻璃板覆盖加以密封, 进行扫描测定。

3.2 供试品溶液的制备 取本品研细, 精密称取 4g, 精密加甲醇 30ml, 称重, 加热回流 2h, 放冷, 称重, 加甲醇补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 20ml, 蒸干, 残渣加水 10ml 使溶解, 用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 20ml, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加

甲醇使溶解,转移至5ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,滤液作为供试品溶液。

3.3 对照品溶液制备 精密称取人参皂甙 Rg1 对照品适量,加甲醇制成每1ml含1mg的溶液,作为对照品溶液。

4 方法学考察

4.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液(0.994mg/ml)2.4.6.8.10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,展开,取出晾干,喷以10%硅钨酸乙醇溶液,于100~102℃加热20min至斑点显色清晰,取出,扫描测定。以人参皂甙 Rg1 的微克数为横坐标,峰面积值为纵坐标作图,得标准曲线,回归方程为 $Y = 2692.25X - 111.60$, $r = 0.9998$ 。回归显示为不通过原点的直线,定量宜采用外标两点法。

4.2 提取溶媒选择 精密称取样品4g,分别加适量甲醇、50%乙醇、70%乙醇,按含量测定项下的条件,扫描测定,结果采用上述三种溶媒提取,人参皂甙 Rg1 含量接近,但甲醇提取液色泽浅,容易过滤,杂质少,故采用甲醇作为提取溶媒。

4.3 不同提取方法与提取时间比较 以甲醇为提取溶媒,采用超声波处理(30min)、浸泡(24h)、热回流(2h)三种提取方式,按含量测定项下的条件,进行测定,结果是采用回流提取方法测得的人参皂甙 Rg1 含量高于其他两种方法。故又对回流时间进行了考察,分别是1.2.3h,结果测出的人参皂甙 Rg1 含量接近。为保证提取完全,故将回流提取时间规定为2h。

4.4 稳定性试验 吸取对照品溶液(0.994mg/ml)6 μ l,点于硅胶G薄层板上,按含量测定项下的条件展开,显色后每隔一定时间扫描一次,共测定7次,结果表明人参皂甙 Rg1 显色斑点在24h内稳定。峰面积相对偏差为1.46%。

4.5 精密度试验

4.5.1 同点 对同一展开斑点连续扫描5次,峰面积相对偏差为1.64%。

4.5.2 同板 吸取供试品溶液,在同一硅胶G薄层板上,分别点5个点,按含量测定项下的条件,扫描测定峰面积值,其相对标准偏差为2.21%。

4.5.3 异板 吸取供试品溶液,分别点于5块硅胶G薄层板上,按含量测定项下的条件,扫描测定,计算人参皂甙 Rg1 含量,其相对标准偏差为3.09%。

4.6 重现性 精密称取供试品5份,按含量测定项

下的条件,扫描测定,计算人参皂甙 Rg1 含量,平均含量为0.950mg/g,其相对标准偏差为2.63%。

4.7 回收率试验 精密称取已知含量的样品2g,分别加入人参皂甙 Rg1 对照品(0.9452mg/ml)2ml,按含量测定项下的条件,扫描测定,结果见表1。

表1 回收率试验

次数	称样量	样品中 Rg1 含量 (mg)	加入 Rg1 量 (mg)	检出 Rg1 总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.0053	1.9050	1.8904	3.716	95.8	97.2	0.96
2	2.0078	1.9074	1.8904	3.7418	97.0		
3	2.0040	1.9038	1.8904	3.7598	98.2		
4	2.0032	1.9031	1.8904	3.7538	97.9		
5	2.0004	1.9004	1.8904	3.7358	97.1		

5 样品测定

测定法:照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VIB)试验,吸取供试品溶液8 μ l,对照品溶液4 μ l及6 μ l,分别交叉点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-乙酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硅钨酸乙醇溶液,于100~102℃烘烤20min至斑点显色清晰,取出,立即用洁净的玻璃板盖密封。照薄层扫描法(中国药典2000年版一部附录VIB)进行扫描,测定波长 $\lambda_s = 520\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$,测定供试品与对照品吸收度的积分值,计算。测得三批成品中人参皂甙 Rg1 含量见表2。

表2 三批成品测定结果

批号	人参皂甙 Rg1 含量(mg/g)
980402	0.96
980502	0.94
980602	1.00

根据以上测定数据,再结合有关文献报道人参所含人参皂甙 Rg1 含量,暂定本品每克含人参以人参皂甙 Rg1($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{14}$)计,不应少于0.6mg。

参考文献:

- [1] 周泽清,韩光,伍朝笈,等.六味枸杞糖浆的薄层色谱鉴别[J].华西药学杂志,1991,6(1):50.
- [2] 徐凯建,孙考祥,黄慧云,等.中药抗衰灵胶囊质控标准的研究[J].中成药,1989,11(4):8.
- [3] 梁鸢.人参及成方中人参的几种薄层层析方法[J].时珍国药,1997;5:410.
- [4] 徐礼棠,沙世炎.中草药有效成分分析法(下册)[M].北京:人民卫生出版社,1984.9.