

薄层扫描法测定健脾开胃颗粒剂中 人参皂苷 Rg₁ 的含量

张春桃¹, 周易², 蒋孟良¹, 周艳¹

(1 湖南中医学院药学院, 湖南长沙 410011; 2 湖南中医学院附属二医院, 湖南长沙 410005)

摘要: 目的: 为制定健脾开胃颗粒剂的内在质量标准奠定基础。方法: 以氯仿-甲醇-水(25: 10: 1) 10℃下放置下层液为展开剂, 10% 硫酸乙醇为显色剂, 以硅胶 G 为吸附剂, $\lambda_s = 535\text{nm}$, $\lambda_R = 660\text{nm}$ 双波长薄层扫描法测定健脾开胃颗粒剂中人参皂苷 Rg₁ 含量。结果: 本品人参皂苷 Rg₁ 的平均含量为 0.0472%, 其线性方程为 $Y = 7688.9x + 5173.4$ ($r = 0.9983$) 平均回收率为 95.56% 精密度良好。结论: 该法简便、快速, 能满足制剂的质量控制要求。

关键词: 人参皂苷; 健脾开胃颗粒; 双波长薄层扫描法; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0017-02

健脾开胃颗粒剂是经验方, 由人参、茯苓、山药、山楂、神曲、陈皮、甘草、白术等中药组成, 具有健脾开胃之功效。人参为方中君药, 又是贵重药, 对其单体皂甙的测定主要采用高效液相色谱法和薄层扫描法, 本文选用人参皂苷 Rg₁ 为测定指标, 薄层扫描法测定其含量, 并采用氯仿-甲醇-水展开体系, 使薄层斑点分离效果优于其他常用展开体系。

1 仪器、试剂与样品

薄层扫描仪(CS-930 型日本岛津), 分析天平(DT-100A), 微量进样器(上海微量注射器厂), 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 其他试剂为分析纯。

人参皂甙 Rg₁ (供含量测定用, 中国药品生物制品检定所), 健脾开胃颗粒剂(自制)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂甙 Rg₁ 对照品适量, 加甲醇制成每 mL 含 1.0451mg 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备 取健脾开胃颗粒 3.1g, 精密称定, 加 70% 乙醇溶液 35mL 回流提取 1h, 滤过, 药渣与滤器用 70% 乙醇溶液洗涤, 洗液与滤液合并, 蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 转移至分液漏斗中, 用乙醚提取 2 次, 弃去乙醚液, 水液用水饱和的正丁醇提取 5 次, 合并正丁醇液, 用正丁醇饱和的 0.1mol/L 氢氧化钠溶液洗涤 2 次, 再用正丁醇饱和的水洗涤, 碱液与水液合并, 用水饱和的正丁醇提取 2 次, 合并前后两次正丁醇液, 置蒸发皿中蒸干, 用甲醇定容至 5mL, 即得。

2.3 λ_{\max} 的测定与扫描条件的确定 精密吸取人参皂甙 Rg₁ 对照品溶液 5 μ L, 供试品溶液 10 μ L 分别点

收稿日期: 2004-01-20

通讯作者: 张春桃: Tel: (0731) 5684955, 013707487727

于硅胶 G 薄层板, 展开剂氯仿-甲醇-水(25: 10: 1) $\lambda_{max} = 535nm$, $\lambda_{min} = 660nm$ 。故扫描条件为 $\lambda_s = 535nm$, $\lambda_r = 660nm$, 狭缝 $1.5 \times 1.5mm$, 外标两点法计算含量。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液(1.0451mg/mL) 1、2、3、4、5 μ L 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 展开, 扫描。以点样量(μ g)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程为: $Y = 7688.9X + 5173.4$, 相关系数: $r = 0.9983$, 结果表明, 人参皂甙 Rg_1 在 1.0451~ 5.2205 μ g 范围线性关系良好。

2.5 稳定性实验 吸取对照品溶液 2 μ L, 点于薄层板上, 于显色后每隔 30min 扫描一次, 结果表明峰面积在 2.0h 内稳定, RSD 为 1.48%。

2.6 精密度实验 同板精密度: 取同一供试品溶液, 在同一薄层板上点 5 个 5 μ L 点, 展开并显色后进行扫描结果 RSD 为 1.27%。

仪器精密度: 对同一斑点连续扫描测定 5 次, 峰面积 RSD 为 0.85%。

2.7 重复性实验 取同一批健脾开胃颗粒依法测定 5 次, 各点样 10 μ L, 峰面积 RSD 为 5.33%。

2.8 阴性干扰实验 取缺人参药方, 按供试品的制备方法制备成空白溶液, 与样品液、 Rg_1 对照品溶液在同一薄层板点样, 并展开, 结果空白液在 Rg_1 斑点处无斑点, 证明空白不存在干扰。

2.9 回收率实验 精密称取已知含量的同一批样品 1.6082g, 分别精密加入人参皂甙 Rg_1 对照品溶液(0.3392mg/mL) 5mL, 同上提取并测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果

编号	供试品量 (mg)	添加量 (mg)	检出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.1901	1.6960	2.8805	99.67		
2	1.1740	1.6960	2.7934	95.49		
3	1.1417	1.6960	2.7435	94.47	95.92	2.54
4	1.1256	1.6960	2.7248	94.29		
5	1.1578	1.6960	2.7805	95.68		

2.10 吸取上述供试液 10 μ L, 对照品液 2、4 μ L 分别交叉点样于同一硅胶 G 板上, 依法展开, 显色, 扫描, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 展开剂的选择 曾采用正丁醇-冰醋酸-水(8: 1

: 1) 下层液, 但斑点分离效果不明显, 干扰色斑相隔太近, 而且展开时间较长, 又曾试用氯仿-正丁醇-甲醇-水(20: 40: 15: 10), 氯仿-甲醇-水(65: 35: 5) 等展开剂效果均不佳。只有用氯仿-甲醇-水(25: 10: 1) 系统, 使人参皂甙 Rg_1 与其他皂甙成分分离, 效果最佳, 且对环境温度及湿度无特殊严格要求, 操作简单。

表 2 样品测定结果(n= 5)

批号	含量(%)
20020305	0.0466
20020305	0.0463
20020311	0.0484
20020314	0.0495
20020319	0.0452

3.2 显色剂与显色条件 曾试用 10% 硫酸乙醇浸泡显色, 该法操作较复杂, 显色剂用量大, 浸泡时间不好把握, 故改为喷雾显色。

3.3 薄板选用 20 \times 20 板, 展开前将薄板各刮去两角约 1.5cm 的硅胶, 可减少前沿效应, 并在展开前饱和 30min, 可减少斑点的拖尾现象。

3.4 本品化学成分复杂, 分别以 0.1mol/L 氢氧化钠-正丁醇饱和溶液的水层和水-正丁醇饱和溶液水层洗涤正丁醇提取液 3 次 \times 20mL, 可有效除去杂质, 使薄层色谱 Rg_1 斑点清晰, 重复性好, 色带干扰小。

参考文献:

[1] 王京辉, 金红宇, 周富荣, 等. 薄层扫描法测定双龙抗癌胶囊中人参皂甙 Rg_1 含量的研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(8): 473.

[2] 雷鹏森, 勾凌燕, 丛月珠. HPLC 法测定五珍参加液中人参皂甙[J]. 中草药, 1993, 24(12): 63.

[3] 马鹏, 林涛, 黄静. 古方生脉制剂中人参皂甙的反高效液相色谱分离和含量测定[J]. 华西药学杂志, 1995, 10(1): 21.

[4] 徐宇, 孙克春, 程地英. TLC 法测定生脉散颗粒剂中人参皂甙 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 的含量[J]. 华西药学杂志, 1995, 10(3): 177.

[5] 张乐平. 双波长薄层扫描法测定商品药材人参中人参皂甙 Rg_1 含量[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(1): 13.

[6] 陈树和. 四君子汤的质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(9): 532-533.