参皇霜质量标准研究

陈英红, 黄恩喜, 姜瑞芝
(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要: 目的: 建立参皇霜质量标准。方法: 采用薄层层析法对参皇霜中蜂王浆进行鉴别; 薄层扫描法测定参皇霜中人参皂苷 Rg_1 含量。结果: 平均回收率为 97.94%, RSD 为 2.69% (n= 5), 重复性试验 RSD 值为 1.48% (n= 5)。结论: 鉴别方法专属性强, 定量方法准确, 稳定, 重现性好, 可作为参皇霜的质量控制标准。

关键词: 参皇霜; 10-羟基癸烯-2-酸; 人参皂苷 Rg_1
中图分类号: R284.1 **文献标识码**: B **文章编号**: 1005-9903(2005)03-0013-02

参皇霜由人参、蜂王浆两味药组成。经多年临床应用, 对毛周角化症、鱼鳞病、手足皲裂、干性脂溢性皮炎等疗效显著。为了更好地控制产品质量, 采用薄层扫描对其组成和主要化学成分进行定性鉴别和含量测定。

1 仪器与试药

CS-9301PC 双波长薄层扫描仪(日本岛津), 紫外光灯(上海安亭仪器厂), 定量毛细管(美国 Drumimond) 硅胶 G、GF_{254}(青岛海洋化工厂), 薄层板 10cm × 10cm。对照品: 10-羟基癸烯-2-酸, 人参皂苷 Rg_1(中国药品生物制品检定所)。参皇霜(长春三九制药公司, 批号 011106, 011108, 011116)。

2 蜂王浆的鉴别

取参皇霜 30g, 加 2% 氢氧化钠 150mL, 搅拌均匀, 离心(4000 转, 20min), 双层纱布过滤, 滤液用浓盐酸调 pH 至 3.0, 置分液漏斗中, 加乙醚 150mL 轻摇萃取, 取醚层蒸干, 残渣加甲醇 5mL 使溶解, 作为供试品溶液。按该药品制法项下方法, 制备不含蜂王浆的阴性样品, 按上述方法制备阴性对照样品溶液。另取蜂王浆 1g, 加 2% 氢氧化钠 5mL, 搅拌均匀, 用浓盐酸调 pH 至 3.0, 置分液漏斗中, 加乙醚 10mL 轻摇萃取, 取醚层蒸干, 残渣加甲醇 5mL 溶解, 作为对照药材溶液。取 10-羟基癸烯-2-酸对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 5mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 ⅥB) 试验, 吸取上述四种溶液各 5μL, 分别点于同一硅胶 GF_{254} 薄层板上, 以环己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(10∶2∶0.3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254nm) 下检视, 供试品色谱中, 在与对照品和对照药材色谱相应的位置上显相同颜色荧光斑点, 且阴性对照样品无干扰。

3 人参皂苷 Rg_1 含量测定

3.1 供试品溶液的制备 取参皇霜约 50g, 精密称定, 加甲醇 100mL, 搅拌均匀, 超声处理 30min, 离心(4000 转, 20min), 取出, 双层纱布过滤, 滤液蒸干, 残渣加乙醚洗涤 4 次, 每次 10mL, 弃去乙醚液, 残渣挥干乙醚, 用水饱和正丁醇 25mL 溶解转移至分液漏斗中, 加氨试液洗涤 2 次, 每次 25mL, 弃去氨试液, 取正丁醇层, 水浴蒸干, 残渣用乙醚洗涤 2 次, 每次 20mL, 弃去乙醚液, 残渣挥干乙醚, 用甲醇溶解并转移至 5mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度。

3.2 对照品溶液的制备 取人参皂苷 Rg_1 加甲醇制成每毫升中含 0.5mg 对照品溶液。

3.3 薄层色谱条件 硅胶板: 取硅胶 G 3.0g, 加 0.5% CMC-Na 约 9mL, 铺成厚约 0.5mm 的薄层板, 105 ℃活化 30min, 置干燥中备用; 展开剂: 氯仿-甲醇-水(65∶35∶10) 10 ℃以下放置的下层溶液, 上行展开约 8cm。取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 ℃加热至斑点显色清晰。

3.4 测定波长的选择 取人参皂苷 Rg_1 对照品溶液 4μL, 点于薄层板上, 依法展开。显色后置薄层扫描仪中, 在波长 200~ 700nm 范围内进行光谱扫描, 结果选得测定波长 λ_s = 512nm, 参比波长 λ_R = 700nm, 狭缝 1.25mm × 1.25mm, 线性参数 S_α = 3。

3.5 线性范围的考察 分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10μL, 点于同一薄层板上, 依法展开, 显色, 扫描。以斑点的峰面积积分值为纵坐标, 点样量为

收稿日期: 2004-06-02
通讯作者: 陈英红, Tel: (0431) 6816839

横坐标, 得回归方程 $Y = 16.9599 + 266.31965X$, $r = 0.9995$。结果表明点样量在 1.00~ 5.00μg 范围内与斑点面积积分值有良好的线性关系。

3.6 样品测定 将对照品溶液 2μL、4μL, 样品溶液 4μL, 间隔点于同一薄层板上, 展开后测定, 结果见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg_1 含量测定($n = 5$)

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
011106	0.0364	2.27
011108	0.0378	2.01
011116	0.0334	2.12

3.7 稳定性试验 取对照品溶液 6μL, 同前点样、展开后, 每隔 30min 扫描, 结果表明, 人参皂苷 Rg_1 在 2h 内稳定。RSD 为 2.08%($n = 5$)。

3.8 重复性试验 取批号 011106 样品五份, 按供试品溶液制备方法制备, 依法展开, 扫描测定, 计算人参皂苷 Rg_1 平均含量为 0.0363mg/g, RSD 为 1.48%。

3.9 回收率试验 取已知人参皂苷 Rg_1 含量为 0.0334mg/g 的样品, 加入人参皂苷 Rg_1 对照品溶液 2mL(浓度 0.695mg/mL), 按供试品溶液的制备方法制备, 依法展开, 扫描测定, 平均回收率为 97.94%, RSD 为 2.69%。结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

称取样品量(g)	供试品 Rg_1 含量(mg)	标准品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
50.0501	1.672	1.39	3.02	96.98
50.9001	1.700	1.39	3.11	101.4
50.0431	1.671	1.39	3.06	99.93
50.0724	1.672	1.39	3.01	96.33
49.9827	1.669	1.39	2.99	95.04

平均回收率(%) = 97.94, RSD = 2.69%。

4 讨论

蜂王浆中主要成分 10-羟基癸烯-2-酸, 为一类不饱和脂肪酸, 样品以 2% 氢氧化钠溶解使其变成盐, 除去大部分基质, 再用盐酸调至 pH 为 3.0, 使其游离, 用乙醚萃取制成供试品溶液。分别选用展开系统 ①醋酸乙酯-石油醚(30~ 60℃)-冰醋酸(8∶2∶0.3); ②环己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(10∶2∶0.5); ③环己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(10∶2∶0.3)。结果显示: 采用展开系统 ③, 样品中的 10-羟基癸烯-2-酸与其它成分分离较好, 斑点清晰。

供试品制备采用甲醇回流和超声两种提取方法, 结果甲醇回流 1h 和超声 20min 样品含量无明显差异, 故选用超声提取。试验中对超声时间进行了考察, 结果发现超声 30min 和 40min 样品含量无变化, 表明有效成分已提取完全, 所以本文采用超声 30min。

本制剂为乳膏剂型, 其中含有大量非极性的基质, 经乙醚两次脱脂, 氨试液两次洗涤, 均无法彻底除去。含量测定采用高效液相色谱法, 基质干扰很大, 无法得到很好分离, 且基质对色谱柱污染严重, 经两次试验, 色谱柱已被损坏, 柱效无法恢复, 故采用薄层扫描法对其含量进行测定。该方法重复性好, 回收率结果满意, 可以作为参皇霜质量控制的方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 附录 37.

[2] 中国科学院药物研究所编著. 薄层层离及其在中草药分析中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1978. 259-275.