

补血益气口服液定性定量方法的研究

周嵩煜, 黄继军

(广西壮族自治区药品检验所, 广西 南宁 530021)

摘要:目的: 建立补血益气口服液的质量检验方法。方法: 采用薄层色谱法对该口服液中的黄芪、红参和制何首乌进行定性鉴别; 采用薄层扫描法测定该口服液中黄芪甲苷的含量。结果: 薄层色谱中斑点清晰, 易于识别; 黄芪甲苷的线性范围为 1.01~ 10.08 μ g, 平均回收率为 97.3% ($RSD=1.14\%$, $n=5$)。结论: 本法可作为补血益气口服液的质量控制指标。

关键词: 补血益气口服液; 红参; 制何首乌; 黄芪甲苷; 薄层扫描法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)02-0013-03

Studies on Quality Standard of Buxueyiqi Oral Liquid

ZHOU Song-yu, HUANG Ji-jun

(Guangxi Institute for Drug Control, Nanning 530021, China)

Abstract: Objective: To establish a method for quality control of Buxueyiqi oral liquid. Methods: Milkvetch root, Red ginseng and Prepared fleeceflower root in the oral liquid were identified by TLC. The content of astragaloside IV in the oral liquid was determined by TLC scanner. Results: The spots in the TLC were clear and distinguishable. The linear range and average recovery of astragaloside IV were 1.01~ 10.08 μ g and 97.3% ($RSD=1.14\%$, $n=5$). Conclusion: The method can be used for quality control of Buxueyiqi oral liquid.

Key words: Buxueyiqi oral liquid; Red ginseng; Prepared fleeceflower root; Astragaloside IV; TLC-scanning method

补血益气口服液具有益气补血, 增强免疫, 延缓衰老的功效。用于气血两虚所致之头晕目眩, 神疲乏力, 面色少华, 心悸怔忡, 短气自汗, 失眠健忘, 纳食不思等症。常服能增强机体抗病能力, 延缓衰老。该制剂由黄芪等多味中药组成, 其中黄芪为君药, 黄芪甲苷为其有效成分之一, 文献^[1,2] 曾用薄层扫描法、高效液相色谱法等对黄芪中黄芪甲苷进行含量测定。本文采用薄层扫描法测定了本品中黄芪甲苷的含量; 采用薄层色谱法对其中的黄芪、红参和制何首乌进行了定性鉴别, 为补血益气口服液提供了定性和定量的质量控制方法。

1 仪器与试药

仪器: CS-9301PC 薄层扫描仪(日本岛津); CAMAG 自动铺板器(瑞士); Sartorius BP211D 电子天平; 定量毛细管(日本岛津); 硅胶 G(青岛海洋化工厂); 羧甲基纤维素钠(上海化学试剂采购站); 大黄素对照品、黄芪甲苷对照品和人参皂苷 Rg1、Re 对照品(中国药品生物制品检定所); 制何首乌对照药材(广西壮族自治区药品检验所); 补血益气口服液样品及缺味阴性对照样品(广西南宁百会药业集团有限公司)。所有试剂均为分析纯。

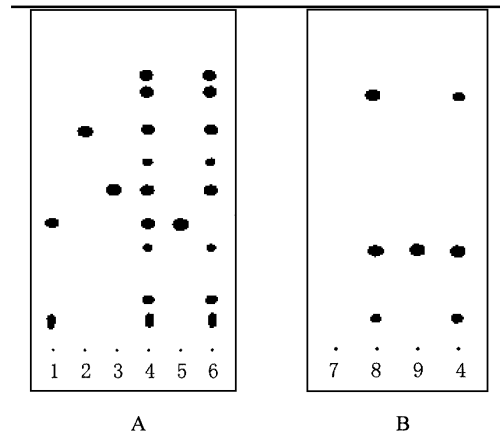
2 黄芪和红参的鉴别

精密量取本品 20ml, 用氯仿振摇提取 2 次, 每次 30ml, 弃去氯仿提取液, 上层溶液用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次(30ml, 20ml, 20ml, 20ml), 合并正丁醇提取液, 用氨试液提取 2 次(100ml, 80ml), 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 2ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。另取缺黄芪及缺红参的阴性对照样品各 20ml, 同法分别制成阴性对照供试液。再取黄芪甲苷和人参皂苷 Rg1、Re 对照品, 分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 6 种溶液各 4μl, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以[正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液]-甲醇-正丁醇(10:1:2)为展开剂, 置氨蒸气饱和的展开缸内展开 16cm 以上, 取出, 晾干, 于 10% 硫酸乙醇溶液中浸湿, 在 100℃ 加热至斑点显色清晰。置日光和紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点或荧光斑点, 阴性对照在相应的位置上均无对应斑点。结果见图 1-A。

3 制何首乌的鉴别

取本品 20ml, 加盐酸 1ml, 用乙醚振摇提取 2 次

(30ml, 20ml), 合并乙醚液, 挥干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。取缺制何首乌的阴性对照样品 20ml, 同法制成阴性对照供试液。另取制何首乌对照药材 2g, 加甲醇 20ml, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为对照药材溶液。再取大黄素对照品, 加甲醇制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 5μl, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 H 薄层板上, 以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 置氨蒸气中熏后, 日光下检视, 斑点变为红色。阴性对照液在相应的位置上无对应斑点。结果见图 1-B。



A. 黄芪和红参 B. 制何首乌

- 1. 缺红参的阴性对照; 2. 人参皂苷 Rg1 对照品; 3. 人参皂苷 Re 对照品; 4. 补血益气口服液; 5. 黄芪甲苷对照品; 6. 缺黄芪的阴性对照; 7. 缺制何首乌的阴性对照; 8. 制何首乌对照药材; 9. 大黄素对照品

图 1 TLC 图谱

4 黄芪甲苷含量测定

4.1 薄层色谱条件及扫描条件 吸附剂为硅胶 G-0.1% CMC-Na 薄层板; 展开剂: [正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:5)的上层溶液]-甲醇-正丁醇(10:1:2), 氨蒸气饱和; 显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液, 100℃ 烘至斑点清晰。取出, 在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板, 周围用透明胶条封固。扫描方式为双波长反射法锯齿扫描, 测定波长: $\lambda = 530\text{nm}$, 参比波长: $\lambda_r = 700\text{nm}$, 线性化参数 $SX = 3$, 所采用的光束为 $0.4 \times 0.4\text{mm}$ 。

4.2 供试品溶液的制备 同“2”项。

4.3 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。

4.4 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品

10.08mg, 置 10ml 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(每 1ml 含黄芪甲苷 1.008mg)。精密吸取对照品溶液 1.2、4.6、8.10 μ l, 分别点于同一薄层板上, 按上述条件展开、显色、测定。以点样量(μ g)为自变量 X, 相应的峰面积积分为因变量 Y, 进行回归分析, 线性方程为: $Y = 219.00X + 33.15 (r = 0.9996)$ 。结果表明: 黄芪甲苷点样量在 1.01~ 10.08 μ g 范围内线性关系良好; 回归方程有截距, 标准曲线不通过原点, 采用外标两点法测定并计算样品中黄芪甲苷的含量。

4.5 精密度试验 仪器精密度: 对同一供试品溶液(批号为 0203008)的黄芪甲苷斑点连续测定 8 次, 结果峰面积积分值的 RSD 为 1.44%。同板精密度: 在同一薄层板上, 取同一供试品溶液(批号为 0203008)点样 8 次, 按上述条件展开, 显色。测定, RSD 为 1.76%。

4.6 稳定性试验 取供试品溶液按上述条件点样、展开、显色, 每隔 30min 扫描测定 1 次, 结果表明, 黄芪甲苷斑点在 6h 内稳定, RSD 为 2.26%。

4.7 重复性试验 取同一批样品(批号为 0203008), 按上述方法平行测定 5 份, 结果黄芪甲苷含量的平均值为 0.1807(mg/ml), RSD 为 0.79%。表明本测定方法重复性好。

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	0203008	0203009	0203010	0202001	0202002	0202003	0202004	0202005	0202006	0202007
含量(mg/ml)	0.181	0.103	0.055	0.039	0.065	0.059	0.090	0.063	0.104	0.124
RSD (%)	0.79	1.51	2.55	2.48	1.65	3.45	2.72	2.33	1.12	1.05

5 讨论

5.1 本文所述对补血益气口服液中黄芪、红参及制何首乌的薄层色谱鉴别方法专属性强、重复性好, 可作为该口服液质量标准中的定性控制指标。

5.2 中国药典 2000 年版一部收载的黄芪甲苷含量测定方法有一用大孔树脂柱进一步纯化供试品溶液的步骤^[3], 而本文方法却去掉了这一步骤, 试验时, 曾做过对比试验, 过大孔树脂柱制成的供试品溶液与不过大孔树脂柱制成的供试品溶液的测定结果无显著性差异。由于本文方法采用的展开系统是一个经改进后的新的展开系统, 试验证明该展开系统对黄芪甲苷与人参皂苷类成分的分离具有很好的选择

4.8 回收率试验 精密称取黄芪甲苷对照品 18.25mg, 置 10ml 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(每 1ml 含黄芪甲苷 1.825mg)。精密量取按本文方法测定了含量的样品(0203008 批) 10ml, 精密加入上述黄芪甲苷对照品溶液(1.825mg/ml 的甲醇溶液) 1ml, 混匀, 水浴蒸去甲醇, 移置分液漏斗中, 蒸发皿用水 10ml 分次洗涤 5 次, 洗液并入分液漏斗中。依本文方法提取、测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品中含黄芪甲苷的量(mg)	加入黄芪甲苷对照品的量(mg)	实测量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.807	1.825	3.592	97.8		
1.807	1.825	3.611	98.8		
1.807	1.825	3.562	96.2	97.3	1.14
1.807	1.825	3.584	97.4		
1.807	1.825	3.562	96.2		

4.9 样品测定 精密吸取供试品溶液 4 μ l、对照品溶液 2 μ l 与 6 μ l, 分别交叉点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 按本文的含量测定方法, 测定了不同批号的补血益气口服液中黄芪甲苷的含量, 结果见表 2。

性, 黄芪甲苷斑点与其他杂质的分离良好, 故本文方法在制备供试品溶液时省去了用大孔树脂柱处理的步骤, 缩短了检验周期。本法结果可靠, 可作为该口服液质量标准中的定量控制指标。

参考文献:

[1] 莫泽乾. 复方扶芳藤合剂质量检验方法的研究[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(4): 267.
 [2] 王静竹. HPLC 法测定黄芪炮制品中黄芪甲苷含量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(2): 84.
 [3] 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 249.