

· 实验研究 ·

生脉饮检验方法的探讨

杭州第二中药厂 江奇珏 陈启荣*

提要 本文用 TLC 检测人参中皂甙, 以各种人参皂甙单体 Rb₂、Re、Rd、Rg₁、Rg₃、Rh₁ 作标样进行鉴别, 并以人参皂甙 Re 纯品作对照, 用扫描法进行人参总皂甙含量测定。用 TLC 鉴别五味子中木脂体, 以五味子乙素、醇乙作标样。用 HPLC 鉴别麦冬成分, 以生药麦冬作对照。本文提供的方法用于生脉饮质量控制效果良好。

关键词 生脉饮 人参皂甙 五味子木脂体 麦冬成分 薄层层析 高效液相色谱

生脉饮的处方由人参、麦冬、五味子组成, 收载于中国药典1985年版(以下简称“药典”), 对这三味药材仅有人参组分的鉴别。本文探讨了这三味药材的组分鉴别及人参皂甙的定量方法, 作了改进和补充, 完善了质量标准。

药典生脉饮人参的鉴别方法为: 提取、酸化、回流、水解为人参皂甙元, 再用氯仿萃取。用 TLC 以人参二醇、人参三醇为对照品, 但其操作繁琐, 耗时长, 且回流后挥去乙醇时易炭化。此法只能鉴别部分成分且系检出人参皂甙元。据报道, 人参中含皂甙共有三十余种, 而多种常见皂甙理化性质都已阐明清楚, 也有许多检测方法发表^[1~3]。本文采用的是直接检出人参皂甙的 TLC 及薄层扫描方法, 因考虑到检测人参皂甙元, 在人参皂甙水解为人参皂甙元过程中, 可能有损耗, 分解, 干扰检测。为此, 提出了用定性和定量联合的方法直接检测人参皂甙。

近年来麦冬化学成分研究表明, 一类为甙类, 以甙体皂甙为主, 含沿阶草甙 A、B 等。另一类为非甙成分, 以异高黄酮为主, 另含烷醛、糖类及微量元素等^[4]。但主要有沿阶草甙 A、B、C、D 等^[5]。现用麦冬作

对照, 以 HPLC 检出沿阶草甙。

北五味子中主要已知成分为: 五味子酯甲、酯乙、醇甲、醇乙、甲素和乙素等^[6]。对生脉散中关于五味子成分检验研究, 已有人提出薄层扫描^[7]及 HPLC^[8]的定量研究, 参考此法, 本文用 TLC 鉴别其中五味子酯甲、酯乙、醇乙。

方法和结果

一、仪器、药品和标准品

岛津 CS-910 双波长薄层扫描仪、C-EIB 数据处理机

Waters 440 HPLC 仪、M481 检测器、M730 数据处理机、C₁₈ 反相柱

生脉饮(编号 01、02、03)

人参、麦冬、五味子药材

人参皂甙 Re 标准品(吉林省药检所提供), 人参皂甙 Rb₂、Rd、Rg₁、Rg₃、Rh₁ 标准品(中科院云南植物所提供)

五味子醇乙、乙素标准品(中国医科院药物所提供)

二、生脉饮中关于人参成分的检测

1. 标准液的制备

正确制成每 1 ml 含 Re 约 2 mg 甲醇溶液

* 指导老师

每1 ml 含 Rb₂、Rc、Rd、Rg₁、Rg₃、

Rh₁ 各1 mg 的甲醇溶液

2. 供试液的制备

精密吸取本品40 ml, 置分液漏斗中, 加水10 ml, 氯仿5 ml, 振摇, 弃去氯仿层。水层用水饱和的正丁醇振摇提取6次, 每次10 ml, 合并正丁醇提取液, 用20 ml 水洗后, 蒸去正丁醇, 残渣用少量甲醇溶解, 移置5 ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

3. 不含人参组分的空白对照溶液的制备(简称A液)

按生脉饮的生产工艺, 取麦冬, 五味子各10 g, 粉碎成粗粉, 用65%乙醇作溶剂, 浸渍24小时, 进行渗漉, 收集滤液, 浓缩至25 ml, 放冷, 加水40 ml 稀释, 滤过, 调整总量至100 ml。用以上供试液相同方法提取处理, 残渣用甲醇溶解, 制成5 ml 即得。

4. 鉴别方法

吸取供试液、人参皂甙Re、Rb₂、Rd、Rg₁、Rg₃、Rh₁ 标准液各10 μl, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(65:35:10取下层)为展开剂, 展开后, 晾干, 喷以1%硫酸铈的10%硫酸溶液, 在105℃加热约10分钟, 显紫红色斑点, 置紫外光灯(365 nm)下检视, 结果见图1。

另吸取供试液, 人参皂甙Rb₂、Rc、Rd、Re、Rg₁、Rg₃、Rh₁ 标准液各10 μl, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:2取上层)为展开剂, 以下操作同上, 结果见图2。

从图1得知: 供试液未出现Rb₂及Re斑点, 因其Rf值较小, 易受糖分干扰。

5. 定量方法

用微量吸样器精密吸取三批不同编号的供试液、A液各30 μl, Re标准液4 μl, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 展开剂, 显色方法均同上, 然后则持此薄层板进行扫描

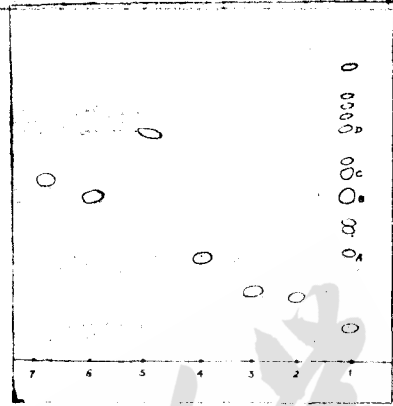


Fig.1 TLC

1. Sample 2. Rb₂ 3. Re 4. Rd
5. Rh₁ 6. Rg₁ 7. Rg₃
A. Rd B. Rg₁ C. Rg₃ D. Rh₁

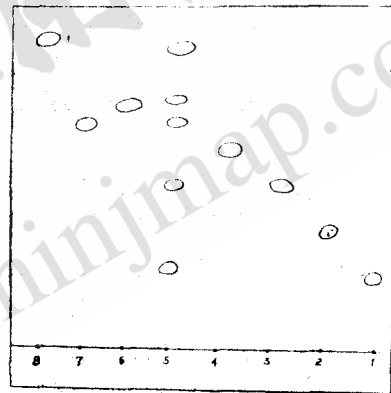


Fig.2 TLC

1. Rb₂ 2. Rc 3. Rd 4. Re
5. Sample 6. Rg₁ 7. Rg₃ 8. Rh₁

定量测定, λ_S 525 nm, λ_R 760 nm, 反射法锯齿形扫描, 扫描速度 10 mm/min, 可用Re标准品浓度计算各皂甙含量以及总皂甙含量。见图3。含量结果见表1。

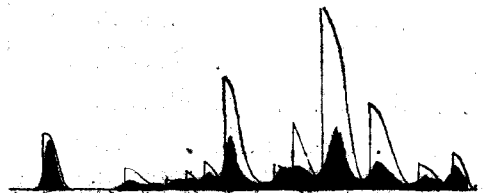


Fig 3 TLC densitometry

表1 不同编号生脉饮人参总皂甙的含量(mg/100ml)

编 号	01	02	03
生脉饮总皂甙	44.86	42.66	44.97
A液总皂甙		18.77	
人参总皂甙*	26.09	23.89	26.20

*本法测定人参总皂甙过程,五味子中的木脂体及麦冬中的甙类被提取夹杂于人参皂甙中,薄层层析出现干扰斑点,影响扫描结果。因此,用A液对照测定。

人参总皂甙 = 生脉饮总皂甙 - A液皂甙值

三、麦冬成分的鉴别

1. 供试液的制备

取本品120 ml,置分液漏斗中,用醋酸乙酯振摇提取6次,每次10 ml,合并醋酸乙酯提取液,挥去醋酸乙酯,残渣用少量甲醇溶解,移置5 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度。再用甲醇稀释1000倍,摇匀,即得供试I液,备用。

2. 原药材对照液的制备

由于无法取得麦冬主成分沿阶草甙标准品,只能用原药材。按生脉饮的生产工艺,取麦冬100 g,粉碎成粗粉,用65%乙醇作溶剂,浸渍24小时后,进行渗漉,收集漉液,浓缩至125 ml,放冷,加水200 ml稀释,滤过,调整总量至500 ml。用以上供试液相同方法提取处理,制成5 ml。再用甲醇稀释10倍,摇匀,即得供试II液,备用。

3. 鉴别方法

取供试I液、II液用HPLC法。色谱条件:(1) C₁₈反相柱;(2)流动相:甲醇-水(70:30);(3)流速:0.4 ml/min;(4)检出波长:225 nm;(5)进样量:2 μl。结果见图4、5。

图谱表明:生脉饮中的四个峰与麦冬出峰的保留时间基本相同。因此,本法可作为麦冬的鉴别依据。

四、五味子成分的鉴别

1. 标准液的制备

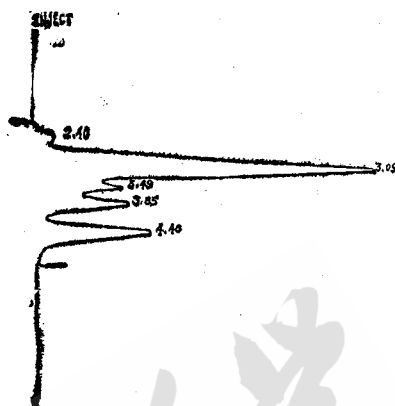


Fig 4 Sample HPLC

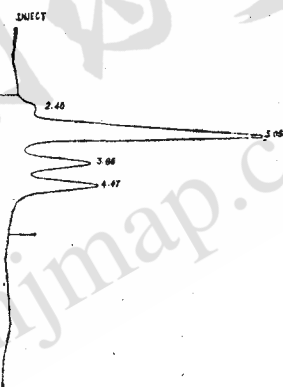


Fig 5 Ophiopogon japonicus HPLC

每1 ml含五味子乙素、醇乙各1 mg的甲醇标准液(为A液、B液)。

2. 供试液的制备

取本品40 ml,置分液漏斗中,用氯仿振摇提取6次,每次10 ml,合并氯仿提取液,挥去氯仿,残渣用少量甲醇溶解,移置到5 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试A液。

3. 原药材对照液的制备

取五味子10 g,粉碎成粗粉,置50 ml圆底烧瓶中,加氯仿40 ml,回流2小时,挥发氯仿制成浓缩液,移置5 ml量瓶中,并用氯仿稀释至刻度,摇匀,即得供试B液。

4. 鉴别方法

吸取标准液A液和B液，供试A液和B液各10 μl，分别点于同一硅胶G薄层板上，以甲苯-醋酸乙酯(6:4)为展开剂，展开后，晾干，喷以10%变色酸溶液+等体积硫酸溶液，在105℃加热约10分钟。结果见图6。

从图6表明，本品可检出五味子酯甲、乙、醇乙。未检出五味子甲素、乙素。

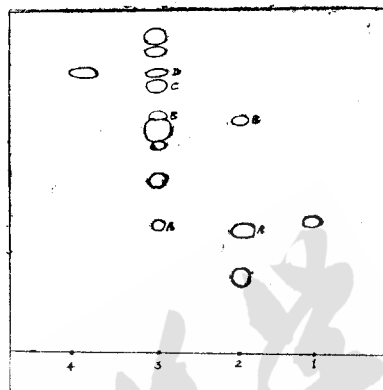


Fig. 6 TLC

1. Schizandrol B 2. Sample 3. Schisandra Chinensis 4. γ -Schizandrin
A. Schizandrol B B. Schizandrin ester A+B, Reference[6]
C. α -Schizandrin, Reference[6]
D. γ -Schizandrin

参 考 文 献

- [1] 罗顺德等：药学通报 1983； 18(8)468
[2] 吴广宣等：白求恩大学学报 1985； 11(2)
[3] 张雷香等：白求恩大学学报 1987； 13(2)
[4] 曾宪武等：浙江中药通讯 1988，第12期
[5] 庄司顺三，他：药学杂志(日)1968； 88(6)710
[6] 朱永新等：药物分析杂志 1988； 8(2)71
[7] 董玉懿等：中草药通讯 1977； (10)8
[8] 王慕邹等：药学报1983； 18(3)209

Study of Detective Method for Chinese Materia Medica Shengmai Yin

Jiang Qiping Chen Qirong

(Hangzhou Second Traditional Chinese Pharmaceutical Works)

Abstract

Ginseng saponins, Lignans of schisandra were detected by TLC and the constituents of ophiopogon were identified by HPLC. The Ginseng saponins were identified by comparison of the authentic sample as Rb₁, Rc, Rd, Re, Rg₁, Rg₃, Rh₁ on the other hand the quantitative analysis of total saponin in comparison with pure Ginseng saponin Re was determined by TIC densitometry, Lignans of schisandra were identified by comparison of authentic sample γ -schizandrin, schizandrol B, constituents of ophiopogon was identified by comparison of ophiopogon japonicus.

This method for the quality control of Shengmai Yin achieved good results.

Key words Shengmai Yin Ginseng saponin Lignans of schisandra Constituent of ophiopogon
TIC HPLC