

薄层扫描法测定生血素口服液中黄芪甲甙的含量

周本宏* 罗顺德 韩德世 蔡鸿生

(湖北省人民医院, 武汉 430060)

摘要 用薄层扫描法测定生血素口服液中黄芪甲甙含量。以氯仿—甲醇—水(65:35:10)的下层溶液展开, 10%硫酸乙醇液显色, $\lambda_s = 530 \text{ nm}$, 外标两点法定量, 结果平均回收率为97.2%, CV = 0.93%, 该法简单可行。

关键词 生血素口服液 黄芪甲甙 高效薄层扫描

生血素口服液为我院研制的治疗小儿营养性缺铁性贫血(IDA)的纯中药口服液, 由黄芪、当归等药精制而成, 实验证明它具有提高细胞免疫功能、促进骨髓造血细胞有丝分裂的作用, 临床验证其有效率为91.43%。黄芪甲甙为黄芪中重要的生理活性成分, 它具有提高免疫功能、降压、护肝等生理功能。

1 材料与仪器

1.1 仪器 CS-9000 双波长飞点薄层扫描仪(日本岛津); 高效硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂); 定量毛细管(Drumond U. S. A); 黄芪甲甙对照品(中国药品生物制品检定所)

1.2 生血素口服液 本院药剂科制备, 10 ml 安瓿装, 批号911118。

1.3 所用试剂均为分析纯

2 方法与结果

2.1 黄芪甲甙对照液的制备 精密称取干燥至恒重的黄芪甲甙对照品适量, 用甲醇溶解定容于5 ml 容量瓶中, 其浓度为0.94 mg/ml

2.2 样品液的制备 取生血素口服液2支, 用石油醚萃取2次, 每次15 ml, 脱脂后再用正丁醇分次萃取4次(30、20、20、20 ml)

合并萃取液, 用无水硫酸钠脱水, 回收正丁醇至干, 用50%乙醇定容于2 ml 容量瓶中备用。

2.3 薄层层析条件及扫描参数的选定

2.3.1 展开剂: 取氯仿—甲醇—水(65:35:10)的下层溶液展开。

2.3.2 显色方法: 将层析后的薄层析于10%硫酸乙醇液中浸渍后取出晾干, 然后于105℃烘烤显色, 呈浅棕红色斑点。薄层层析结果见图1。

2.3.3 扫描参数的选定: 将层析显色后的斑点于CS-9000双波长飞点薄层扫描仪上在可见光区进行光谱扫描, 可见光在530 nm 处有最大吸收, 故选定 $\lambda_s = 530 \text{ nm}$, SX = 3, 背景校正, ON 反射法锯齿扫描。

2.4 标准曲线的绘制 分别用定量毛细管吸取黄芪甲甙对照品液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 μl 点于同一块薄层板上, 以氯仿—甲醇—水(65:35:10)的下层溶液展开, 将层析后的薄层板于10%硫酸乙醇液浸渍后烘烤显色, 按上述扫描参数扫描。以点样量(μg)为横坐标, 斑点面积积分值为纵坐标作图, 得一不通过原点的直线, 其回归方程为 $\hat{y} = 8098.2 \times - 2087.7$ ($r = 0.999$) 表明黄芪甲甙在0.94~4.70 μg 范围内线性关系良好。

2.5 加样回收率的测定 分别精密量取20

*周本宏, 男, 27岁, 1988年毕业于湖北中医学院药理学系, 药师。

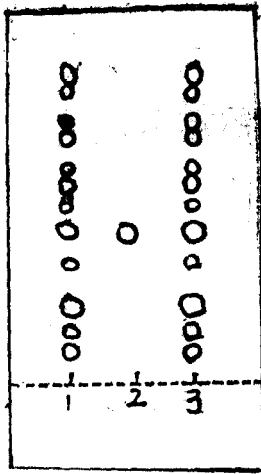


图1 薄层层析图

1、3, 样品
2, 标准品

ml 生血素口服液 4 份, 在其中 3 份分别加入黄芪甲甙对照液 0.4、0.6、0.8 ml, 然后分别按 2.2 项下样品液的制备方法提取, 得到

表 2 回收率测定结果

编号	样品测得量(μg)	加样测得量(μg)	加入量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	CV(%)
1.	1.687	2.415	0.752	96.8	97.2	0.93
2.	1.690	2.778	1.128	96.5		
3.	1.689	3.166	1.504	98.2		

2.7 样品的含量测定 按 2.2 项下方法制备样品液, 用定量毛细管吸取此样品液 4.0 μl 及黄芪甲甙对照液 3.0、4.0 μl 点于同一块薄板上, 按前述条件展开扫描, 以外标两点法计算含量, 结果见表 3。

表 3 样品测定结果

批号	含量 (g/100 ml)
91118	0.00423
91227	0.00414
901012	0.00395
900815	0.00371
910410	0.00475

三个不同浓度的加样样品液和一个未加样品液。然后用定量毛细管吸取样品液、加样样品液各 4 μl 及黄芪甲甙对照液 3.0、4.0 μl 点于同一薄板上。按上述条件展开显色扫描, 按外标两点法计算含量, 测定回收率结果见表 1。

表 1 显色稳定性试验结果

编号	0 min	20min	40min	60min	CV(%)
1.	28281.450	28198.320	28141.810	28032.150	3.63
2.	28341.410	28230.530	28168.850	28053.780	
3.	28258.360	28147.650	28101.752	28001.120	
4.	28306.451	28210.550	28125.230	28010.310	
5.	28352.000	28245.100	28138.780	28045.520	

2.6 显色稳定性试验 用定量毛细管吸取黄芪甲甙对照品溶液 4.0 μl 同点五个点于同一块薄层板上, 展开、晾干, 每隔 20 min 扫描一次, 考察 60 min。结果见表 2。

3 讨论

本文建立了生血素口服液中黄芪甲甙含量的薄层扫描测定方法, 实验证明该方法可行, 可作为有关制剂中黄芪甲甙含量的质控方法之一, 为生血素口服液的内在质量的控制提供了依据。

参 考 文 献

- 1 张银娣等. 黄芪甲甙的抗炎和降压作用. 药理学报, 1984, 19(5):333
- 2 张银娣等. 黄芪甲甙的镇痛、镇静作用. 南京医学院学报, 1984, 4(4):225

收稿日期: 1992-06-31