

薄层扫描法测定参苓白术散中人参皂甙 R_{g1} 的含量

王 伟 王五华 栗亚丽¹

(内蒙古医学院药理学系, 呼和浩特 010059)

摘要 采用双波长薄层扫描法测定参苓白术散中人参皂甙 R_{g1} 的含量。本法具有准确、灵敏、专属等优点。回收率为99.35%, 变异系数为1.18%。

关键词 人参皂甙 R_{g1} 参苓白术散 双波长薄层扫描法

参苓白术散是由人参、茯苓、白术等十味中药组成, 具有补脾胃、益肺气等功能。其中人参为主药。有关参苓白术散中人参的含量测定未见文献报道。本文采用双波长薄层扫描法测定该散剂中人参皂甙 R_{g1} 的含量。

1 仪器和试剂

岛津 CS-930 薄层扫描仪, PBQI 型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂); 人参皂甙 R_{g1} 对照品(中国药品生物制品检定所制); 硅胶 G(青岛海洋化工厂); 参苓白术散为市售品(呼市中药厂批号: 931042、940111, 内蒙集宁中药厂批号: 930817); 所用试剂均为分析纯。

2 标准溶液和样品溶液的制备

2.1 标准溶液的制备: 取人参皂甙 R_{g1} 约为3 mg, 精密称定, 置5 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并至刻度。

2.2 样品溶液的制备: 称取参苓白术散约10 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加入氯仿50 ml, 在水浴上回流1 h, 放冷, 过滤, 用氯仿15 ml 洗涤药渣, 弃去氯仿液。药渣挥干溶剂后, 用50 ml 甲醇水浴回流2 h, 放冷, 滤过, 药渣再以25 ml 甲醇回流1 h, 放冷, 滤过, 加20 ml 甲醇洗涤药渣及过滤器, 合并滤液, 回收甲醇。残渣用水溶解三次(15、10、10 ml), 并过滤于分液漏斗中, 加氨水1 ml, 用水饱和的正丁醇提取4次(20, 20, 10, 10 ml), 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇分次溶解, 定量转移至5 ml 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀。

3 扫描条件的选择

2.1 薄层板制备: 0.5% CMC-Na-硅胶 G(3:1) 湿法铺板, 厚度为0.5 mm, 晾干, 于110°C 活化半小时。

3.2 扫描方式: 反射法锯齿扫描, $SX = 3$ 狭缝 1.2×1.2 mm

3.3 测定波长及参比波长的选择: 在薄层层析中, 由于薄层板的厚度、硅胶 G 的生产厂家或批号不同, 都会使被测物的最大吸收峰位有所改变, 在本实验条件下, 用岛津 CS-930 型薄层扫描仪从370~700 nm 范围内进行扫描, 标准品斑点与样品斑点显相同的光谱图, 测定波长为 $\lambda_s = 525$ nm, 参片波长为 $\lambda_R = 640$ nm。

4 标准曲线绘制

精密吸取标准品溶液2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μ l 分别点于同一硅胶 G 板上, 用氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)10°C 以下放置, 取下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10% 硫酸乙醇溶液, 在105°C 加热5—10 min, 取出放至室温, 按上述条件扫描, 以峰面积积分值为纵坐标, 点样量为横坐标, 用最小二乘法求得回归方程为 $y = 76.05 + 1470.41X$, 点样量在1.2~6 μ g 范围内呈现良好线性, 相关系数为0.9995。

5 稳定性试验

在薄层板上点标准品溶液和样品溶液适量展开并显色后, 在相同条件下于不同时间连续测定。结果表明, 斑点的面积积分值在3 h 内不发生变化。

1 中国药学会内蒙古分会

6 重现性试验

精密吸取标准溶液和供试品溶液各 4 μ l、12 μ l, 点九个点, 按上述条件展开后, 显色, 扫描, 分别测得 9 个斑点面积积分值的变异系数为 2.14% 和 1.96%。

7 加样回收实验

称取参苓白术散约 10 g, 精密称定; 再称取人参皂甙 R_{g1} 标准品约 1 mg, 精密称定, 加入上述样品中, 按样品溶液的制备操作。点样量为 12 μ l, 标准品点样量为 4 μ l 和 10 μ l, 按上述条件展开、显色并扫描, 以外标两点法计算总量, 其回收率结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果

次数	样品量 (μ g)	加入量 (μ g)	实测量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.634	2.451	5.113	101.1	99.35	1.18
2	2.345	2.407	4.745	99.71		
3	2.697	2.346	5.001	98.21		
4	2.454	2.306	4.722	98.35		
5	2.571	2.465	5.021	99.39		

表 2 样品含量测定结果 (n = 6)

批号	测得量 (μ g)	含量 (mg/ml)	RSD (%)
931042	3.480	0.193	1.78
940111	2.689	0.164	2.01
93C817	3.056	0.170	1.94

8 样品测定

精密吸取标准品溶液 4 μ l 和 6 μ l, 供试品溶液 12 μ l, 分别点于同一硅胶 G 板上, 按上述条件展开、显色并扫描, 以外标两点法计算含量, 结果见表 2。

9 讨论

9.1 取按处方比例制备的不含人参的阴性对照散剂约为 9 g, 以下操作同样品制备及测定, 结果显示, 在与人参皂甙 R_{g1} 斑点的 R_f 值相同的位置上阴性对照无斑点(见图 1), 且在 370~700 nm 范围内进行扫描得阴性对照光谱曲线, 在该曲线上, 525 nm 处的吸收度与 640 nm 处的吸收度相等。

9.2 提取用量及次数: 为保证样品中人参皂甙 R_{g1} 的提取完全, 对甲醇、正丁醇的提取次数和使用量做了试验, 并通过 TLC 鉴别证明是否有 R_{g1} 的斑点, 结果见表 3。

结果表明, 甲醇提取到第二次时, 提取液浓缩后经 TLC 鉴别几乎无 R_{g1} 的斑点, 认为提取完全。

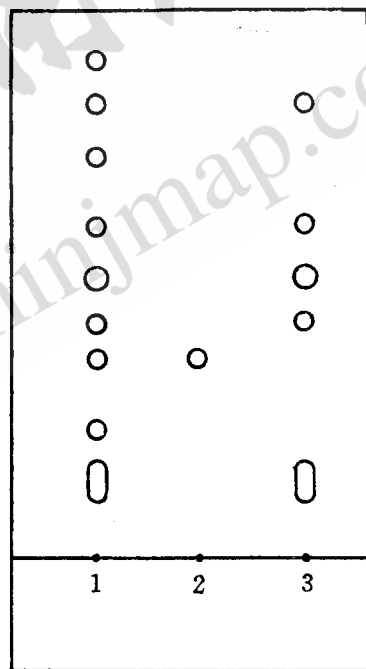


图 1 参苓白术散 TLC 图谱

1. 供试品 2. 人参皂甙 R_{g1} 3. 阴对照

正丁醇提取到第 4 次时, 提取液浓缩后, 经 TLC 鉴别也无 R_{g1} 的斑点。

9.3 在用水饱和的正丁醇提取过程中, 由于样品溶液含有大量的皂甙类化合物, 振摇后易造成乳化现

表3 甲醇、正丁醇提取用量及次数的考察

次数	甲醇用量 (ml)	TLC鉴别	正丁醇用量 (ml)	TLC鉴别
1	50	卅	20	卅
2	25	±	20	+
3	20	-	10	±
4	20	-	10	-
5	-	-	10	-

象,这时可以用热毛巾敷分液漏斗或把乳化液放入离心管中离心,均可以破乳。否则提取分离不完全,会使含量测定结果偏低。

收稿日期: 1994-12-02