

罗汉金丹口服液中人参二醇的鉴别

海军司令部直属医院药房 凌云

第二军医大学药学院(上海 200433) 柴逸峰 李修祿

罗汉金丹口服液是益肾健脾、保精益气、补脑安神、延年益寿的中药复方制剂。该方是由人参、党参、淫羊藿、黄芪等15味中药组成。人参虽是主要成份之一,但所占比例却很少,因而其鉴别受其他药物的干扰很大。作者采用吸附层析和萃取等方法除去干扰后,再用薄层层析分离和紫外分光光度法鉴别人参皂甙。结果表明此法较灵敏,重现性好,且操作较简单,色谱特征显著,为含有少量人参而组分多的液体中药制剂进行质量控制提供了依据,并可用于其他复方制剂中人参的质量控制。

一、仪器与试剂

岛津 UV-3000 型双光束双波长紫外分光光度仪,电热恒温水浴, 800 型离心沉淀机,回流装置,减压回收装置。硅胶 G (青岛海洋化工厂), 氧化铝-中性 200~300 目(上海五四化学试剂厂), 精制硅藻土(精制方法^[4]), 罗汉金丹口服液(第二军医大学药学院生药教研室), 人参二醇、人参三醇标准品(卫生部药品检验所), 正丁醇饱和液。

二、实验准备

1. 对照品药液的制备

取人参皂甙元(人参二醇、人参三醇)对照品适量,溶于甲醇中,配成每 ml 含 1.0 mg 的标准品液,备用。

2. 人参粉对照液的制备

取人参粉(生晒参) 5.0 g,用无水乙醇先浸泡 1 h 以上,加热回流两次,每次 50 ml, 2 h,回流后放冷,吸取上清液,用无水乙醇稀释至每 ml 相当于原生药约 0.05 g,备用。

3. 精制硅藻土柱

取 1.2×18 cm 玻璃柱,柱底放入少许尼龙丝,称取精制硅藻土 3.0g,加水 2.0ml,混匀后装柱。

4. 中性氧化铝柱

取 1.2×18 cm 玻璃柱,柱底放入少许脱脂棉,称取中性氧化铝 1.5 g,装柱。

5. 样品溶液的制备

(1) 人参皂甙的提取

取罗汉金丹口服液 10 ml,加水 10ml 稀释,用水饱和正丁醇萃取 4 次^[1],每次 10 ml,合并正丁醇液,通过铺有 5.0 g 中性氧化铝的布氏漏斗抽滤,正丁醇液置分液漏斗中用水洗 2 次,再用 50% 甲醇液 20 ml 通过滤饼,抽滤,滤液加 30 ml 水稀释,再用水饱和正丁醇萃取三次,每次 10 ml,合并正丁醇液,水洗 2 次,正丁醇液减压浓缩至干,将上述水洗过的正丁醇液与残物混合,继续减压浓缩至干,备用。

(2) 皂甙的水解

残渣加 15% 硫酸的乙醇-水溶液约 20 ml^[3](无水乙醇 10 ml、水 10 ml、硫酸 1.6 ml),置圆底烧瓶中,加热回流 4 h,加入 25%

氢氧化钠液调至强碱性,继续加热半小时,放冷,用环己烷萃取3次,每次10ml,用水洗一次,倾入硅藻土柱内,下接中性氧化铝柱,弃去流液,用无水乙醇5ml过氧化铝柱,收集流液,吹干,加环己烷0.5ml溶解。

6. 人参粉样品液的制备

取人参粉对照液3ml,加无水乙醇7ml,水10ml、硫酸1.6ml,置50ml圆底烧瓶中,加热回流4h,以下操作同前。

7. 空白样品液的制备

取不含人参的罗汉金丹口服液10ml,加水10ml稀释,以下操作同5。

8. 空白样液加人参粉对照液样品液的制备

取人参粉对照液3ml,蒸干,加不含人参的罗汉金丹口服液10ml,搅拌溶解,加水10ml稀释,以下操作同5。

9. 空白样液直接加人参粉末样品液的

制备

精取人参粉(生晒参)0.15g,置蒸发皿中,加不含人参的罗汉金丹口服液10ml,浸泡过夜,置水浴上加热2.5h,并不断加水搅拌,过滤,用少量水冲洗滤纸,最后使体积约为20ml,用水饱和正丁醇萃取,以下操作同5。

三、实验结果

(一)薄层层析

1. 用微量注射器分别吸取上述5、6、7、8、9样品液各50ul,点于硅胶G薄板上(2.5×7.0cm),旁边另点有人参二醇和人参三醇对照标准品液,用氯仿-乙醚(1:1)展开至一定距离后,取出薄板,用吹风机吹干溶剂,以硫酸-甲醇(1:1)溶液喷雾,用吹风机吹至显色,可见5、6、8、9样板上出现与人参二醇标准品斑点颜色、位置相同的斑点,见图1。

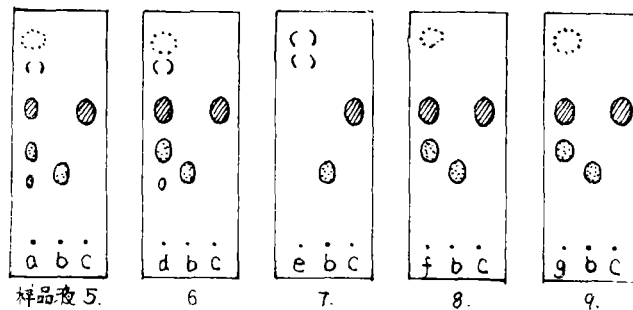


图1 罗汉金丹口服液中人参皂甙元 TLC 图谱

a. 样品液 b. 人参三醇 c. 人参二醇 d. 人参粉对照液的样品液 e. 空白样液
f. 空白样液加人参粉对照液的样品液 g. 空白样液加人参粉末的样品液

2. 用微量注射器吸取8、9样品液各500ul,分别作条状点样,并在旁边点有人参二醇对照标准品液10ul定位,展开、显色同

上,薄板上显出一条与人参二醇标准品斑点颜色、位置相当的条状色带,见图2。

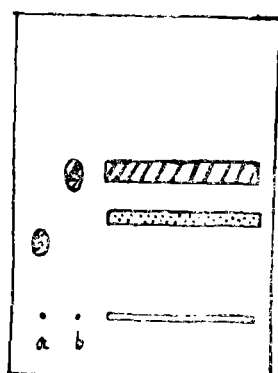


图2 罗汉金丹口服液中加入人参后人参皂甙的TLC图谱

- a. 人参三醇 b. 人参二醇
- c. 空白样液加入人参对照液的样品液
空白样液加入人参粉的样品液

(二) 紫外分光光度法测定

条件: 扫描速度 200 nm/min, 纸速 20 nm/cm, 波长 800→400 nm, 灵敏度 0.000—1.000(5,6 样品液为 0.000—2.000)。

用微量注射器吸取 1 人参二醇对照标准品液 100 ul 及 5,6,7,8,9 样品液各 500ul, 分别作条状点样, 不显色, 旁边另点有人参二醇标准品液 10 ul 定位、显色, 展开同前。将与人参二醇对照标准品液斑点位置相当的色带刮入 10 ml 具塞试管中, 精加 5% 香草醛—冰醋酸溶液 0.2 ml、高氯酸 0.8 ml^[2], 混匀, 密塞, 置 60°C 水浴中加热 15 分钟, 用流水冷却, 精加冰醋酸 5 ml, 摇匀, 离心, 吸取上清液倾入吸收池, 取条状硅胶作空白于分光光度仪上测量吸收度, 见图 3。

人参二醇对照标准品液经扫描在 560nm 处有最大吸收峰, 样品液 5,6,8,9 亦同样在 560nm 处有最大吸收峰, 所以可以确认此峰是人参二醇的吸收峰, 见图 3。

四、讨论

1. 罗汉金丹口服液由 15 味中草药组成, 以亲水性成分为主, 其中糖类、淫羊藿

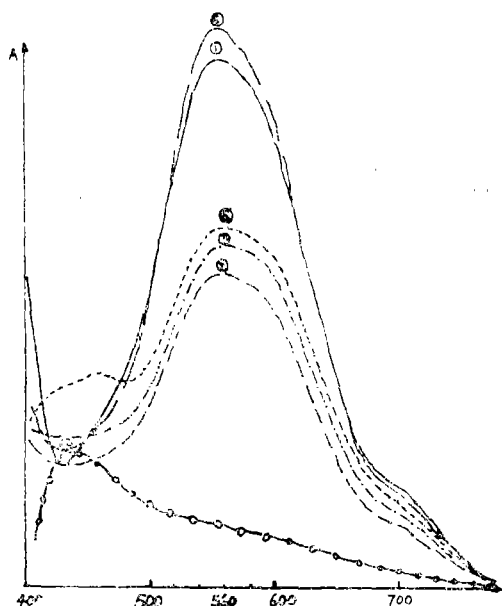


图3 各样品液人参皂甙元(人参二醇)的紫外扫描光谱图

- ①人参二醇对照液
 - ②样品液
 - ③人参粉样品液
 - ④空白样液
 - ⑤空白样液加入人参粉对照液样品液
 - ⑥空白样液直接加入人参粉样品液
- 灵敏度为 0.000—2.000

甙类、黄酮类等对层析干扰很大, 笔者用氧化铝吸附大部分杂质后, 再用正丁醇萃取的预处理法排除杂质对以后薄层层析和测定时的干扰, 而人参皂甙可被正丁醇提出。

2. 通过反复实验, 证实该口服液的最佳水解条件为 15% 硫酸的乙醇—水(1:1)溶液, 加热回流 4 h 水解可完全^[3], 薄层层析时灵敏度好, 取该口服液 10 ml, 即可得到与标准品相同的斑点。甾醇在强碱溶液中稳定, 酸水解后再调至强碱性水解, 可使甾醇游离, 有利于提取。一般文献介绍的酸水解 [7% 硫酸乙醇—水(1:3)] 条件, 则水解不完全, 灵敏度差。

3. 水解后用环己烷萃取, 再用硅藻土, 硅胶 H 吸附杂质^[3], 但薄层层析效果不理

想,背景干扰很大,将硅胶H改为氧化铝后,可明显脱色,得到满意的薄层色谱效果。

4. 实验证实本法灵敏度较高,经多次加样试验结果一致,表明本法的可靠性与正确性,不仅为该口服液中人参的质控提供了一个重要的依据,并为其定量分析打下了基础。

参 考 文 献

- [1] 颜玉贞等.分析测试通报,1988,7:82
- [2] 王慕邹等.人参的分析 I,14:309
- [3] 李云华等 SFC 法测定人参及其中成药中人参二醇及人参三醇的含量.
- [4] 李修禄等.药物分析杂志,1981,1(3):149,

HPLC 法测定苯妥英钠及其制剂的含量

湖北省药检专科学校药理学系(湖北 430064) 饶泽萍 李俊

苯妥英钠为临床上常用有效的抗癫痫药,对其含量测定,目前国内常用的方法多为原料药用萃取重量法,片剂用双相滴定法^[1],但前者操作方法较费时繁杂,后者乙醚提取易泄漏误差大。而采用高效液相色谱法(HPLC法)直接测定尚未见报道^[2],本文采用 HPLC 法直接测定苯妥英钠的含量,与药典方法比较具有准确,简便,快速,结果满意等优点。

实 验 部 分

一、仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪; SPD-6AV 紫外检测器; C-R 3A 数据处理机。

苯妥英钠:标准品(精制原料药,含量 99.8%);苯巴比妥钠(内标,为有机分析标准试剂)、苯妥英钠片(武汉制药厂)、甲醇(GR 级试剂)、三次重蒸馏水。

二、实验方法与结果

1. 高效液相层析条件 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS 柱(0.15m×6.0); 流动相: 甲醇-水(65:35); 流速: 1 ml/min; 测定波长: 254 nm; 灵敏度: 0.16、纸速:

5 mm/min; 柱温: 40℃。

2. 标准曲线:精密称取苯巴比妥钠对照品 25 mg 置于 50 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,作内标液备用。

精密称取苯妥英钠 50 mg 置于 50 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,备用。

精密吸取 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 ml 标准液分别置于 10 ml 量瓶中,各精密加入内标液 2 ml,用流动相溶解并稀释至刻度,摆匀。照上述色谱条件,取 10 ul 进样,以浓度为横坐标,峰面积比为纵坐标绘图,其数据经直线回归,线性关系及精密度均好,其回归方程和相关系数分别为 $y = 0.1095 + 0.4967x$, $r = 0.9996$,线性范围 0.5~2.5 ug/ml。

3. 回收率测定 按处方量配制模拟片^[3],照样品测定项下操作和计算,平均回收率为 100.18%,相对标准差为 0.16%(n=5)

4. 原料测定 精密称取苯妥英钠样品约 50 mg 置 50 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 3.0ml 置 10ml 量瓶中,精密加入内标液 2.0 ml,用流动相稀释至刻度,取 10 ul 进样,测定结果见表