

薄层色谱扫描法测定复方益精胶囊中熊果酸

耿莹莹¹, 阙慧卿², 邓思珊², 林 媛^{2*}, 曹剑虹², 吕绍光³

(1. 福建省药品检验所, 福建 福州 350001; 2. 福建省医学测试重点实验室 福建省医学科学研究所,

福建 福州 350000; 3. 福建省立医院, 福建 福州 350000)

复方益精胶囊由山茱萸补肾益精之品, 佐以淫羊藿等补肾壮阳之药, 再配以黄柏等清热祛湿等 12 味中药组成, 补肾益精, 清热利湿, 补中兼清。临床上主要用于治疗不育症, 应用多年, 疗效确切。为了更好的控制产品质量, 本实验采用薄层扫描法对方中熊果酸进行了测定。

1 材料

日本岛津 CS-930 薄层扫描仪, 电热恒温水浴锅(上海申胜生物有限公司), 定量毛细管(美国 Drummond)。硅胶 G 高效板(40 cm×20 cm, 青岛海洋化工厂), 其余试剂均为分析纯, 熊果酸(中国药品生物制品检定所, 批号 1110742-200314); 复方益精胶囊(福建省医学科学研究所与福建省立医院联合研制, 规格: 0.5 g/粒)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取烘至恒重的熊果酸对照品适量, 加甲醇配制成质量浓度为 0.375 mg/mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备: 取复方益精胶囊若干粒, 将内容物倒出研细, 混匀, 精密称取内容物 10 g, 用滤纸包裹置索氏提取器中, 加乙醚 100 mL, 回流 4 h 至无色, 滤过, 回收乙醚, 剩余物加 3~4 倍量水, 搅拌, 静置 24 h, 滤过, 滤渣用 NaOH 溶液处理, 调至 pH 10~11, 溶解, 静置, 滤过, 得滤液与不溶物, 滤液加盐酸酸化, 调 pH 2~3, 静置滤过, 得沉淀, 用甲醇溶解, 定容至 10 mL, 即得。

2.3 展开条件: 硅胶 G 高效板(40 cm×20 cm); 展开剂: 氯仿-丙酮-醋酸乙酯(20:2:5); 显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液, 110 °C 烘 5~7 min, 显紫红色。

2.4 薄层扫描条件: 双波长反射法锯齿扫描, $\lambda_s = 520$ nm, $\lambda_R = 700$ nm, 狭缝: 1.2 mm×1.2 mm。

2.5 标准曲线的制作: 精密吸取熊果酸对照品溶液适量, 用甲醇配制成 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 的溶液, 用 6 μ L 定量毛细管点于一硅胶 G 高效板上, 展开, 晾干后, 喷显色剂, 放凉后, 盖上

干净的玻璃板, 四周用胶布封好, 进行扫描测定。以峰面积积分为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 计算回归方程 $A = 139\,917.59C - 1\,275.178$, $r = 0.997\,7$ 。结果表明熊果酸在 0.05~0.5 mg/mL 与峰面积积分值呈线性关系。

2.6 稳定性试验: 精密称取复方益精胶囊(批号 20041210)制备的供试品溶液, 取 3 μ L 点于硅胶 G 薄层板上, 展开, 显色, 每隔 30 min 扫描, 结果在 2 h 内峰面积积分值基本不变, RSD 为 2.18% ($n=5$)。

2.7 精密度试验: 精密称取复方益精胶囊(批号 20041210)制备的供试品溶液。点 5 个同样量于同一硅胶 G 高效薄层板, 扫描, 测得峰面积积分值的 RSD 为 1.15%。点 5 个同样量于 5 块不同薄层板上, 扫描, 测得峰面积积分值的 RSD 为 4.57%。

2.8 重现性试验: 精密称取益精胶囊(批号 20041210)内容物 9.98 g 5 份, 制备供试品溶液测定。结果熊果酸质量分数为 0.054 9 mg/粒, RSD 为 0.76%。

2.9 加样回收率试验: 取益精胶囊内容物约 5.00 g, 精密称定, 分别加入熊果酸对照品溶液适量(相当于含熊果酸对照品 0.5 mg), 制备供试品溶液, 测定, 结果平均回收率为 104.46%, RSD 为 4.74% ($n=5$)。

2.10 样品测定: 精密吸取适量 6 μ L 样品溶液与 6.3 μ L 对照品溶液交叉点于硅胶 G 高效板上, 平行做 5 份, 进行测定, 计算, 结果见表 1。

表 1 复方益精胶囊中熊果酸的测定结果

Table 1 Ursolic acid in Compound Yijing Capsule

批 号	熊果酸/(mg·粒 ⁻¹)	RSD/%
20041210	0.054 9	2.48
20050129	0.049 2	3.80
20050222	0.046 3	5.65
20050318	0.053 7	3.08
20050414	0.056 0	2.12

3 讨论

熊果酸用硫酸显色后, 暴露在空气中易褪色, 且硫酸易吸水, 所以薄层板显色后, 须用玻璃板覆盖,

四周用胶带封好,进行扫描测定。

熊果酸薄层展开剂受温度和湿度影响较大,本

实验摸索出较为理想的展开剂系统为氯仿-丙酮-醋酸乙酯(20:2:5)。

正交试验-人工神经网络模型优化龙眼多糖的超声提取工艺

王统一^{1,2}, 赵兵^{1*}, 王玉春¹

(1. 中国科学院过程工程研究所 生化工程国家重点实验室, 北京 100080; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

龙眼为无患子科植物龙眼 *Dimocarpus longan* Lour. 的果实, 药用价值很高, 自古以来被视为珍贵补品。龙眼甘、平、无毒, 主治思虑过度, 劳伤心脾, 健忘怔忡, 虚烦不眠, 自汗惊悸, 具有开胃健脾, 补虚益智的作用, 可作为治疗病后虚弱、贫血痿黄、神经衰弱、产后血亏等症的佳品。在清除活性氧自由基、抑制脂质过氧化以及提高免疫方面, 龙眼果肉提取液均具有很高的活性^[1], 并且其对宫颈癌细胞的抑制率可达 90%^[2]。目前龙眼深加工仍以龙眼干为主, 产品附加值较低。超声波对植物中各种成份的提取分离的强化作用主要源于其空化作用, 其提取的效果与物料及体系的性质、超声波强度、作用时间等多种因素有关, 因而选择适宜的提取条件有助于提高提取率和降低提取成本。

本实验利用正交试验和人工神经网络模型优化了超声强化提取龙眼多糖的条件, 与传统加热提取相比显著提高了龙眼多糖的提取得率和效率, 可为龙眼深加工提供参考。

1 仪器与材料

JY99—2D 超声波细胞破碎机(宁波新芝); DGG—9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海森信); QN—999 粉碎机(韩国日进精工有限公司); 08—2B 离心机(上海安亭科学仪器厂); 752 紫外光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); HF—5.0B 超声循环提取机(北京弘祥隆生物技术开发有限公司)。龙眼干产于广东高州, 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超声提取工艺流程: 将一定量龙眼果肉与水混合粉碎, 调节合适液固比, 置于超声提取装置中进行超声强化提取。提取后将提取液进行液固分离、蒸发浓缩、加入适当体积分数乙醇沉降 24 h, 液固分离, 得到龙眼多糖粗品。

2.2 多糖的测定^[3]: 采用苯酚—硫酸法, 取葡萄糖对照品配成 200 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 溶液, 各加水补至 2 mL, 然后加入 6% 苯酚试液 1 mL 和 5 mL 浓硫酸, 静置 10 min 后摇匀, 20 min 后于 490 nm 处测定吸光度值, 以质量浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归得到回归方程为 $C=0.125\,455\,A-0.003\,62$, $r=0.998\,77$ 。待测多糖粗品溶于 100 mL 水, 取 0.5 mL 稀释至 50 mL, 取此稀释液 1 mL, 按上法测定吸光度, 根据标准曲线换算糖的质量浓度。计算多糖提取率(多糖提取率=多糖质量浓度 $\times$ 体积/龙眼果肉质量 $\times$ 100%)。

2.3 正交试验及其结果: 选用 pH 值(A)、超声功率(B)、超声作用时间(C)、占空比(D)、粒度(E)、液固比(F)、提取温度(G) 7 个因素, 每个因素 3 个水平, 采用 $L_{18}(3^7 \times 2^1)$ 正交表进行试验。因素水平见表 1。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素						
	A	B/W	C/min	D	E/目	F	G/℃
1	2	400	10	10%	40	10	20
2	6	700	20	30%	60	20	30
3	10	1000	30	50%	80	30	40

每次称取 10 g 龙眼果肉, 按液固比 10:1 加水粉碎, 过 40、60、80 目筛并调节合适 pH 值, 正交试验结果见表 2。

由极差 R 的大小可知因素重要性: 液固比>pH 温度>占空比>时间>功率>粒度。试验 12 号条件的得率最高, 条件为 pH 10, 功率 300 W, 30 min, 占空比 30%, 粒度 40 目, 液固比 30, 温度 20 $^{\circ}\text{C}$ 。

对结果进行方差分析, 粒度偏差平方(219.376)和与误差偏差平方和=195.603 相近, 故把其并入误差项, 分析精度提高。对结果进行方差分析, 见表 3。

收稿日期: 2006-04-29

作者简介: 王统一(1980—), 男, 山东临沂人, 硕士, 研究方向为生物化学工程。

* 通讯作者 赵兵 Tel: (010)82627059 E-mail: bzhaoh@home.ipe.ac.cn