

人参北芪片的质量控制研究

李伟佳

广州中一药业有限公司, 广东 广州 510530

摘要: 目的 建立人参北芪片的质量标准, 控制制剂的质量。方法 采用薄层色谱法对制剂中组成药味人参进行鉴别, 采用 HPLC-蒸发光散射检测法测定制剂中的黄芪甲苷, 并进行方法学考察。结果 人参的薄层鉴别中, 斑点清晰, 阴性无干扰。黄芪甲苷在 0.997 6~14.964 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.06%, RSD 为 1.60%。结论 建立的薄层色谱和高效液相色谱定性、定量方法可以用来控制人参北芪片的质量, 方法简便可行。

关键词: 人参北芪片; 薄层色谱; 人参皂苷; 高效液相色谱; 黄芪甲苷; 质量标准

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2011)06-0436-03

Quality standard of Renshen Beiqi Tablets

LI Wei-jia

Guangzhou Zhongyi Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510530, China

Key words: Renshen Beiqi Tablets (RBTs); TLC; ginsenoside; HPLC; astragaloside; quality standard

人参北芪片处方原收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第四册, 由人参和黄芪两味中药组成, 具有扶正固本、补气升阳、强心固脱、补虚生津的功效, 用于体虚欲脱、肢体倦怠、神疲乏力、多梦健忘等症^[1]。原标准只有理化鉴别项, 标准简单, 专属性差, 本实验对质量标准进行了修订和提高, 增加了人参的薄层鉴别, 黄芪甲苷为黄芪的主要活性成分之一^[2-3], 故选择黄芪甲苷做为本品质量的指标成分。本实验建立了人参北芪片的定性定量分析方法, 方法简便可靠。

1 仪器和试剂

安捷伦 1100 型液相色谱仪, Alltech ELSD2000 检测器, 梅特勒-托利多 XS205DU 电子天平。

人参对照药材(批号 917-9202)、人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-200726)、人参皂苷 Re (批号 110754-200822)、人参皂苷 Rb_1 (批号 110704-200420)、黄芪甲苷(批号 110781-200512)均由中国食品药品检定研究院提供, 大孔树脂(天津市海光化工有限公司), 硅胶 G(批号 060818, 青岛海洋化工厂), 预制板(德国 Merck 公司), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 超纯水。

人参北芪片样品由广州中一药业有限公司提

供, 规格 0.29 g/片, 批号 080101、080102、080103、080104、080105、080106。

2 方法与结果

2.1 人参北芪片中人参的 TLC 鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 40 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 溶解, 移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 20 mL, 取正丁醇液蒸干, 残渣加水 5 mL 溶解, 溶液通过 D-101 型大孔吸附树脂柱(12 cm $\times$ 1.50 cm), 以水 50 mL 洗脱, 再用 40%乙醇 50 mL 洗脱, 弃去 2 次洗脱液, 继续用 70%乙醇 80 mL 洗脱, 收集 70%乙醇洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 即得。

2.1.2 对照药材溶液的制备 取人参对照药材 1 g, 按照供试品溶液制备方法, 制成对照药材溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别取人参皂苷 Rg_1 对照品、人参皂苷 Re 对照品及人参皂苷 Rb_1 对照品, 加甲醇制成 3 种质量浓度均为 1 mg/mL 的溶液, 作为混合对照品溶液。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 按处方及制法制成缺人参的阴性对照样品。取相当于供试品的量, 按供

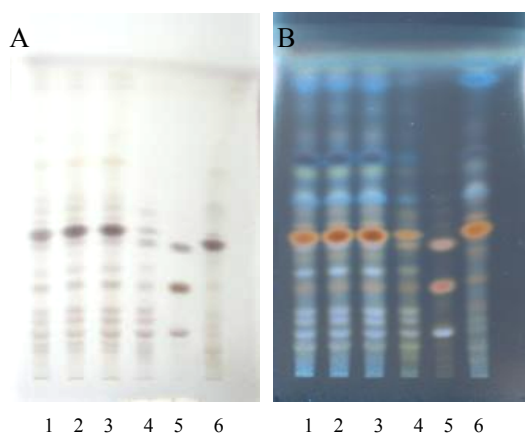
收稿日期: 2010-08-30

作者简介: 李伟佳(1981—), 男, 黑龙江齐齐哈尔人, 工程师, 2007 年获中国药科大学药学硕士学位, 从事中药及制剂的分析研究工作。

Tel: (020)82017456 E-mail: li_clouds@163.com

试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.1.5 TLC 鉴别与结果 照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取上述4种溶液各5 μ L,分别点于同一预制硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)10 $^{\circ}$ C以下放置过夜的下层溶液为展开剂,在湿度小于65%条件下展开至约15 cm,取出晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,分别置日光及紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱及对照品色谱相应的位置上,分别显相同颜色的斑点或荧光斑点,阴性对照色谱中无相应斑点,见图1。



1~3-人参北芪片供试品 4-人参对照药材 5-由上至下分别为人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 6-缺人参阴性对照品
1—3-RBTs sample 4-ginseng reference crude drug 5-ginsenoside Rg_1 , Re , and Rb_1 from top to bottom 6- reference substance without ginseng

图1 人参北芪片中人参的可见光(A)及紫外光(B) TLC 鉴别

Fig. 1 TLC identification of ginseng in RBTs by visible light (A) and UV light (B)

2.2 黄芪甲苷的 HPLC-ELSD 法测定

2.2.1 色谱条件 Alltima C_{18} 色谱柱(15 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水(32:68), 蒸发光散射检测器, 体积流量1 mL/min。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成0.5 mg/mL溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品20片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇40 mL, 超声处理30 min, 滤过, 用少量甲醇洗涤残渣及滤纸, 合并滤液, 蒸干, 加水20 mL溶解, 移至分液漏斗中, 加水饱和的正丁醇振摇提取3次, 每次20 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨水洗涤2次, 每次20 mL, 取正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至5 mL量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方及制法, 制成缺黄芪的阴性对照样品。取相当于供试品的量, 按供试品的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.2.5 线性范围的考察 取黄芪甲苷对照品溶液(0.4988 mg/mL), 分别精密吸取2、5、10、15、20、30 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 以吸取的对照品质量的对数值为横坐标(X), 测得的峰面积的对数值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 1.5014X + 2.0417$, $r = 0.9976$ 。结果表明, 黄芪甲苷的进样量在0.9976~14.9640 μ g与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各10 μ L, 分别注入液相色谱仪, 测定, 结果表明阴性对照在黄芪甲苷色谱峰位置处无相应峰出现, 对测定结果无影响。结果见图2。

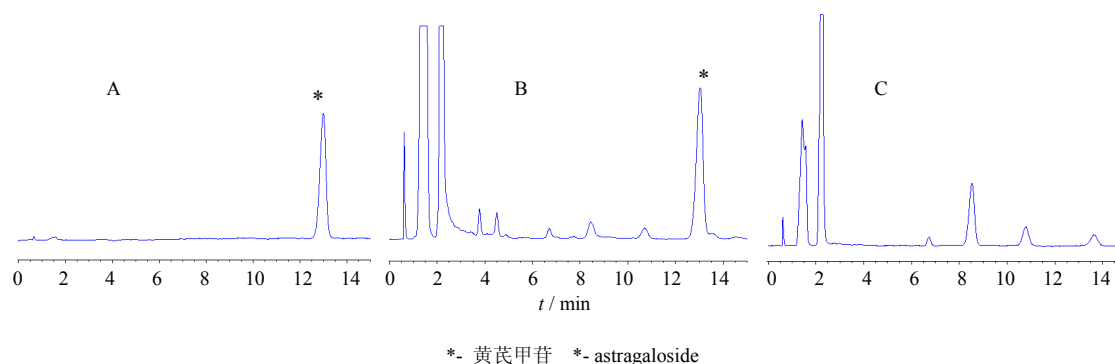


图2 黄芪甲苷对照品(A)、人参北芪片(B)、缺黄芪对照品(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of astragaloside reference substances (A), RBTs (B), and reference substances without astragalus (C)

2.2.7 精密度试验 取同一黄芪甲苷对照品溶液(质量浓度 0.498 8 mg/mL), 连续测定 5 次, 计算 RSD, 结果 RSD 值为 0.52%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取批号 080101 人参北芪片供试品溶液, 分别在 0、1、3、5、8、12 h 进样测定, 记录黄芪甲苷峰面积, 计算 RSD 值, 结果供试品溶液 RSD 值为 0.5%, 表明供试品溶液在室温放置 12 h 测定基本稳定。

2.2.9 重现性试验 取批号 080101 人参北芪片供试品 6 份, 制备供试品溶液, 分别测定, 记录黄芪甲苷的峰面积, 计算黄芪甲苷的量和 RSD 值, 结果 RSD 值为 2.5%, 表明结果重现性良好。

2.2.10 回收率试验 取批号 080101 人参北芪片 6 份, 每份 1.0 g, 分别精密加入黄芪甲苷对照品溶液(0.498 8 mg/mL) 3 mL, 测定, 结果平均回收率为 98.06%, RSD 为 1.6%。

2.2.11 样品的测定结果 取批号 080101、080102、080103、080104、080105、080106 人参北芪片样品制备供试品溶液。分别精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 10、20 μ L, 供试品溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪测定, 用外标两点法对数方程计算, 结果见表 1。

根据已测定的 6 批供试品的量, 最低为 1.447 8 mg/g, 每片除去薄膜衣后的素片质量约为 0.28 g, 因此最低量为 0.405 4 mg/片, 考虑到药材质量的差异以及各批工艺制法上的损耗等不稳定因素, 含量限度以 80% 计算, 即 0.31 mg/片, 故规定本品每片含黄芪甲苷($C_{41}H_{68}O_{14}$) 不得少于 0.31 mg。

3 讨论

本实验中, 人参鉴别曾试验过多种展开条件, 包括三氯甲烷-甲醇-水(13:6:2) 10 $^{\circ}$ C 以下放置过夜的下层溶液^[4]、正丁醇-醋酸乙酯-稀氨溶液(5 $\rightarrow$ 50)(4:1:5) 的上层溶液^[5]、三氯甲烷-甲醇-

表 1 人参北芪片中黄芪甲苷测定结果

Table 1 Determination of stragaloside in RBTs

批号	黄芪甲苷	
	(mg·g ⁻¹)	(mg·片 ⁻¹)
080101	1.615 6	0.450 8
080102	1.688 2	0.472 7
080103	1.447 8	0.405 4
080104	1.501 6	0.420 4
080105	1.559 6	0.436 7
080106	1.515 7	0.424 4

水(65:35:10) 10 $^{\circ}$ C 以下放置过夜的下层溶液^[6]等展开系统, 但效果均不好, 以本实验所用展开系统为佳, 可以得到斑点清晰、分离度好的结果。

对供试品的制备条件进行了考察, 分别考察了超声提取和回流提取两种方式, 结果表明无显著差异, 以超声提取比较方便, 因此采用超声提取; 分别考察了水饱和正丁醇提取 2、3、4 次的结果, 结果表明, 提取 3 次和 4 次的结果无明显差异, 但都较提取 2 次的含量高, 因此采用提取 3 次的方法。

参考文献

- [1] 卫生部药品标准 [S]. 第四册. 1991.
- [2] 王 畅, 张艳军, 冯 英, 等. 黄芪甲苷对短暂性前脑缺血模型大鼠海马神经再生的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 754-758.
- [3] 关凤英, 李 红, 杨世杰. 黄芪甲苷预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤后细胞凋亡的保护作用及机制研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1146-1150.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [5] 王术玲. 人参、三七、黄芪的薄层色谱鉴别 [J]. 中国药品标准, 2003, 4(2): 48-50.
- [6] 张朝民, 黄海欣, 张玉洁. 含皂苷药材的薄层色谱鉴别试验 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 53-54.