

灵芝糖泰胶囊质量标准的研究

朱秀奎 于文静 申玉华 (吉林省药品检验所, 长春 130062)

赵淑贤 (洮南市第二制药厂, 137100)

摘要: 采用薄层色谱法对灵芝糖泰胶囊中灵芝多糖进行定性鉴别, 并用分光光度法, 以无水葡萄糖为对照品, 测定灵芝多糖的含量, 平均回收率为 100.3%, RSD 为 0.97%, ($n=5$)。重现性 RSD 为 1.08($n=6$)。

关键词: 灵芝糖泰胶囊、灵芝多糖、薄层色谱、含量测定

灵芝糖泰胶囊的主要成份为灵芝多糖粗粉、灵芝子实体粉。本标准测定灵芝多糖的含量, 辅料淀粉也是一种多糖, 水解后也生成还原性单糖, 与 3.5-二硝基水杨酸试液呈颜色反应, 干扰灵芝多糖的测定。故选用 50℃ 水浴中振摇提取 30min, 灵芝多糖能完全提取出来, 而淀粉不溶解, 滤过除去可排除干扰。

1 仪器与试剂

UV-2100 分光光度计(日本岛津)

葡萄糖对照品为无水葡萄糖 分析纯 照中国药典(1995 年版二部)检验, 比旋度为 +52.8°。

硅胶 G(青岛海洋化工厂), 薄层板机械涂布, 厚度 0.3mm, 110℃ 活化 30min。

化学试剂均为分析纯

2 灵芝多糖的薄层色谱鉴别

取本品 2g, 加水 50ml, 在 50℃ 水浴中振摇提取 30min, 滤过(或离心取上清液), 取滤液 3.2ml, 置离心管中, 加无水乙醇 24ml, 置旋涡混合器上, 混匀, 离心 10min, (2500r/min), 倾去上清液, 沉淀中加乙醇 24ml, 同法洗涤 3 次。沉淀加盐酸溶液(3mol/L) 10ml 溶解, 沸水浴中水解 30min, 取出, 放冷, 作为供试品溶液。另取葡萄糖对照品 100mg, 加盐酸(3mol/L) 10ml, 沸水浴中加热 30min, 取出, 放冷, 加

水至 25ml, 摇匀, 作为对照品溶液。再另取缺灵芝多糖的阴性样品, 与供试品溶液同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法试验, 吸取对照品液 1 μ l, 供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 分别以①醋酸乙酯—甲醇—冰乙酸—水(12:3:3:2)、②丁酮—醋酸—水(6:1:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 20% 硫酸乙醇液, 120℃ 烘约 10min, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上均显相同的棕黑色斑点。阴性对照液色谱无对照色谱相应的斑点, 证明本法无干扰。展开剂①薄层色谱效果好。展开剂②有拖尾现象。

3 含量测定

3.1 提取条件的选定

选用 22℃(室温)、30、40、50、60、70℃ 水浴中振摇提取, 分别测定灵芝多糖粗粉、灵芝子实体粉、淀粉中多糖的含量。见表 1

表 1 不同温度提取, 测得多糖含量(%)

温度℃	22	30	40	50	60	70
灵芝多糖粗粉	28.36	28.89	30.15	30.33	30.06	30.42
灵芝子实体粉	1.64	1.85	2.18	2.10	2.18	2.24
淀粉	0	0	0	0	0	4.64

从表 1 中看出,在 40℃以上,灵芝多糖粗粉、灵芝子实体粉中多糖能够提取完全。淀粉在 60℃以下不溶解,可滤过除去,测定结果为 0,在 70℃水浴中提取,淀粉糊化,有干扰,所以,选用 50℃水浴中振荡提取 30min。

3.2 测定波长的选择

称取在 105℃干燥至恒重的葡萄糖对照品 0.09250g,置 250ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品液。照含量测定方法制备供试品液。取缺灵芝多糖的阴性样品,同法制备阴性对照液。照分光光度法,在 450—600nm 波长范围内扫描,在 480nm 波长处供试品液、对照品液均有最大吸收,阴性对照液的吸收度为 0.01,(酚酞的干扰)。在 520nm 波长处,供试品液、对照品液的吸收为一缓坡,而阴性对照液的吸收度为 0,因此,选用 520nm 作为测定波长^[2]。

3.3 标准曲线的绘制

精密称取 105℃干燥至恒重的葡萄糖对照品 0.1614g,置 250ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 0.0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0ml,置 25ml 量瓶中,再分别加水 2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0.0ml,精密加 3.5 一二硝基水杨酸(DNS)试液 1.5ml,置沸水浴中加热 5min^[2],放冷,加水至刻度,摇匀。照分光光度法,在 520nm 波长处测定吸收度 A, A=0。

1913C-0.08 $r=0.9999$,说明在浓度为 10.33—51.65 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间与吸收度 A 有良好线性关系。

3.4 干扰试验

按处方比例,称取除含灵芝多糖以外的其他成分,按含量测定方法,在 520nm 波长处测定吸收度为 0。

3.5 测定方法稳定性试验

同一供试品液在 0、1、3h 测定吸收度 A 为 0.529、0.529、0.529,说明该样品,显色以后 3h 之内稳定。

3.6 精密度试验

同一供试品液,水解后,取 6 份,按含量测定方法测定含量为 50.76、50.22、49.86、50.58、50.58、50.22mg/粒, $\bar{X}=50.37\text{mg}/\text{粒}$, $\text{RSD}=0.66\%$ 。

3.7 重现性试验

同一供试品,精密称取 6 份,照含量测定方法测定,含量为 47.26、47.70、47.16、48.60、47.88、47.70mg/粒, $\bar{X}=47.71\text{mg}/\text{粒}$, $\text{RSD}=1.08\%$ 。

3.8 加样回收率试验

精密称取已知含量供试品约 0.2g,精密加入葡萄糖对照品约 0.09g,照含量测定方法测定含量,计算回收率。结果见表 2。

表 2 加样回收率测定

样 品		加入葡萄糖 对照品量(g)	测得量(g)	回收率%	$\bar{X} \pm \text{RSD}$ %
称 量(g)	含糖量(g)				
0.2004	0.0611	0.0921	0.1542	101.1	
0.2086	0.0635	0.1011	0.1661	101.5	
0.2053	0.0625	0.0805	0.1425	99.4	100.3
0.2349	0.0715	0.0905	0.1620	100.0	± 0.99
0.2465	0.0750	0.0891	0.1636	99.4	

3.9 含量测定

对照品液的制备,取 105℃干燥至恒重的葡萄糖对照品约 0.1g,精密称定,置 250ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品液的制备 取本品 10 粒的内容物,研细,精密称取约 0.4g,置 100ml 量瓶中,加水 60ml,置 50℃水浴中振荡溶解 30min,放冷,加水至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,续滤液作为供试品液。

测定液的制备 精密量取供试品液 5ml,置 25ml 量瓶中,加盐酸溶液(6mol/L)5ml,置沸水浴中水解 30min,放冷,加酚酞指示液 1 滴,加 40%氢氧化钠液 3ml,再用氢氧化钠试液调至中性,放冷,加水稀释至刻度,摇匀。

校正液的制备 精密吸取供试品液 5ml,置 25ml 量瓶中,加酚酞指示液 1 滴,用氢氧化钠试液调至中性,加水至刻度,摇匀。

测定法 精密量取对照品液、测试液、校正液、水(空白)各2ml,分别置25ml量瓶中,各精密加3.5一二硝基水杨酸试液1.5ml,混匀,置沸水浴中加热5min,放冷,加水至刻度,摇匀。照分光光度法,在520nm波长处测定吸收度,以测试液吸收度减去校正液吸收度计算,结果乘以0.9。测定三批样品,结果见表3。

表3 样品含量测定

批号	含量(mg/粒)
950201	48.8
950202	49.2
950203	50.2

4 讨论

4.1 灵芝多糖为葡聚糖,加酸水解后生成葡萄糖。葡萄糖对照品溶解后作为对照品液。进行薄层色

谱鉴别,葡萄糖对照品的Rf值稍大于供试品液的Rf值。但是,葡萄糖对照品与供试品液同法,加酸沸水浴中加热30min,薄层色谱图,二者Rf值一致。考虑是否是葡萄糖的异构体所致,有待进一步研究。

4.2 灵芝多糖水解 $(C_6H_{10}O_5)_n + (n-1)H_2O \rightarrow nC_6H_{12}O_6$,生成n个分子葡萄糖,需加入n-1个分子水,多糖分子量很大,n近似等于n-1,葡萄糖分子量为180,水分子量为18,灵芝多糖的量与水解后生成葡萄糖量的比值近似0.9:1的关系,所以,测得葡萄糖量乘以0.9为灵芝多糖的量。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国药典(一部)
- 2 董文慧等分光光度法测定云芝肝泰中云芝多糖含量,中国药科大学学报,1989,20(3):175

收稿日期:1996-10-14