

平喘益气颗粒的人参 TLC 鉴别和麻黄的 HPLC 含量测定

李国琴, 周 颖, 黄雪惠, 胡 凯, 王新华 (杭州华东医药集团生物工程研究所, 浙江 杭州 310011)

中图分类号: R284.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)07-0608-02

平喘益气颗粒是公司技术转让浙江医科大学临床药理研究所根据古方《神秘汤》含麻黄、苦杏仁、厚朴、陈皮、甘草、柴胡、紫苏叶, 再加入人参、穿山龙二味组成, 有宣肺平喘、补肺益气的功效的颗粒剂。在该样品中有效成分的相关测定, 已有文献报道, 本文根据本样品的具体特性采用了不同的提取方法, 并用薄层色谱鉴别样品中的人参皂甙和高效液相色谱法检测样品中盐酸麻黄碱的含量。证明该方法能有效地检测样品中的上述两种成分。

1 仪器及试剂

硅胶 G 薄层板、紫外灯(365nm)

仪器: SHIMADZU 高效液相色谱仪

色谱柱: Aglient RX-C18 柱 250 × 4.6mm, 5 μ

水为重蒸水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 平喘样品为本公司自制样品, 对照品为中国药品生物制品检定所提供。

2 实验过程

2.1 样品中人参皂苷的鉴别

2.1.1 鉴别方法

取本品 3g, 加 40mL 水饱和正丁醇冷浸过夜, 超声提取 30min, 过滤, 正丁醇液用氨试液洗涤二次, 每次 40mL, 合并正丁醇液, 浓缩至干, 再加水 30mL, 溶解, 过滤, 滤液加到已处理好的大孔树脂上(玻璃柱 1.5 × 20cm, 大孔树脂 DA201: 101 为 1:1, 柱顶加 120 目 Al₂O₃ 1g 湿法装柱), 用 100mL 水

洗除杂质(流速 2.0mL/min),再用 75% 乙醇 100mL 洗脱(流速 60d/min)。收集洗脱液,浓缩至干,甲醇定容至 2mL,另取人参皂苷 Rb1、Re、Rg1 对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的混合溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法(中国药典 2000 版一部附录 V I B 页)试验,吸取上述供试品溶液及对照品溶液各 2μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(65:35:10)10℃ 下放置下层液作为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105℃ 烘约 5 min,分别置日光及紫外灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱的相应位置上分别显相同颜色的斑点与荧光斑点。

2.1.2 提取方法的比较

取样品加水溶液,过滤,先用乙醚萃取,弃去乙醚,后用水饱和的正丁醇提取,取正丁醇液,蒸干,点样,发现拖尾严重,而且萃取时乳化存在,比较难分层。而用水饱和的正丁醇冷浸过夜超声提取后,氨试液洗涤,上大孔树脂柱,先用水洗,后用 75% 乙醇洗脱,蒸干乙醇液,用甲醇溶解点样。结果较好,因此选用该法。

2.2 盐酸麻黄碱的含量测定

2.2.1 测定方法

照高效液相色谱法(中国药典 2000 版一部附录 VID)测定。

系统适用性试验:用十八烷基键合硅胶为填料,流动相:0.01mol/L 磷酸二氢钾(用 0.45μm 微孔滤膜滤过并用磷酸调 pH 为 2.5 为甲液)-甲醇(96:4),流速 1.2mL/min,检测波长为 210nm,柱温为室温,理论塔板数按盐酸麻黄碱计应不低于 1000。

样品提取:精密称取本品约 2.0g,用滤纸筒包扎,置 50mL 锥形瓶中,加 1mol/L 盐酸 40mL,浸泡过夜,置超声仪中提取 30min,滤过,锥形瓶及滤纸用适量的蒸馏水(10mL,10mL)洗涤,各超声 15min,合并提取液,至分液漏斗中,加 NaCl5g,振摇,溶解,依次用 20、20、20、20、20mL 乙醚液,用 10mL 蒸馏水洗涤,将水层并入提取液,加浓氨水使成碱性,依次加入氯仿 20、20、20、20、20mL 振摇,静置,分取下层液,移至蒸发皿中,加盐酸 1mL;水浴蒸干,用甲液溶解,定容至 25mL,经 0.45μm 微孔滤膜过滤,作为供试品溶液。分别精密对照品和供试品溶液 20μL,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,外标法计算,即得。

2.2.2 方法的重现性

取同一批号样品 6 份,按新的含量测定方法测定盐酸麻黄碱的含量,其相对标准差 <2.0%,结果见表 1。

表 1 重现性试验结果

Tab 1 Reproduciblity test result		
实验次数	盐酸麻黄碱含量(mg/g)	RSD%
1	2.56	1.60
2	2.67	
3	2.58	
4	2.65	
5	2.60	
6	2.61	

2.2.3 方法的回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的平喘益气颗粒剂,分别添加盐酸麻黄碱对照品,按新的方法提取测定,并计算回收率,结果见表 2,结果表明本法回收好,方法可行。

表 2 回收率测定结果

Tab 2 Yield test result						
次数	样品中盐酸麻黄碱含量(mg)	添加盐酸麻黄碱的量(mg)	测得盐酸麻黄碱量(mg)	回收率 % (n = 3)	平均回收率 %	RSD %
1	3.7528	2.41	6.2614	101.6	100.88%	1.55%
2	4.5746	2.23	6.9611	102.3		
3	3.9496	2.20	6.1988	100.8		
4	4.3939	2.15	6.7076	102.5		
5	3.4799	2.35	5.7483	98.6		
6	3.8283	2.44	6.2370	99.5		

从以上研究可以证明用提取方法对样品中有效成分的测定结果无明显影响,但新方法简便易行。

3 讨论

本文中对人参皂苷的鉴别用不同的提取方法处理,结果样品中三个对照品的斑点均能看到,但发现饱和正丁醇液用氨试液洗涤后,TLC 图谱的斑点清晰;而盐酸麻黄碱的含量测定主要是麻黄主峰,用新的提取方法包括:超声提取,加盐酸及水浴蒸干,操作方法较原来的提取方法简单,而且经过验证,新方法符合要求。