DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.24.033
第25卷第24期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 24
2003年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2003

文章编号:1000-5404(2003)24-2243-02

技术方法

补益口服液中人参皂苷 Rg_1 的含量测定方法

Determination of gensenoside Rg_1 in BuYi oral liquid

杨万兴 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所药剂科,重庆 400042)

提 要:目的 采用薄层扫描法对补益口服液中人参皂苷 Rg_1 含量进行测定。方法 样品经适当提取后点于硅胶G薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(16∶42∶20∶18)10 ℃以下放置的下层溶液为展开剂,10%硫酸乙醇显色,单波长反射法锯齿扫描,λ=530 nm。结果 点样量在1.2~8.0μg范围内呈良好的线性关系,其回归方程为:y=-223.4+1 468.8x,r=0.9995;平均回收率为98.80%,RSD=0.69%。结论 此方法简便,灵敏,数据准确,为复方中人参皂苷 Rg_1 的含量测定提供了一个简单可行的方法。

补益口服液系由人参、枸杞、党参、丹参等中药组成,具有提高机体免疫之功能,临床用于肿瘤病人放疗、化疗和创伤的辅助治疗口服液[1]。本实验用薄层扫描法测定其中人参皂苷 Rg_1 的含量,操作简便、结果准确,可作为该制剂的质控方法之一。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

日本岛津CS-9301PC薄层色谱扫描仪;硅胶G1(青岛海洋化工集团);939薄层制板器(重庆南岸贝尔德仪器厂);定量毛细管(USA Drunmond Scientific Co);人参皂苷 Rg_1 对照品(中国药品生物制品检定所),补益口服液(自制),所用试剂均为分析纯。

1.2 色谱系统

展开剂:氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(16∶42∶20∶18)10 ℃以下放置的下层溶液为展开剂,10%硫酸乙醇溶液,105 ℃烘至斑点显色清晰。薄层板:硅胶G-0.5%,CMC-Na板,机器铺板,规格为(10 cm×20 cm×0.4 cm),105 ℃活化30 min。色谱扫描参数:λ=530 nm,单波长反射法锯齿扫描,狭缝:0.4 mm×0.4 mm,SX=3。

1.3 对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 Rg_1 对照品,加甲醇制成1.2 mg/ml溶液,作为对照品溶液。

2 结果

2.1 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 μl,点于同一硅胶G薄层板上,依法展开,显色,扫描测定。以浓度为横坐标,斑点面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。结果表明:人参皂甙 Rg_1 点样量在1.2~6.0μg范围内,浓度同斑点面积积分值呈线性关系,其回归方程为:y=-223.4+1 468.8x,r=0.9995,直线不通过原点,因此可用外标两点法计算含量。

2.2 稳定性实验

取对照品溶液点于薄层板上,展开,显色,每隔10 min扫描测定1次,结果在30 min内稳定。

2.3 精密度考察

精密吸取对照品溶液3.0μl,在同一薄层板上点样6次,依法展开,显色,扫描测定,测定结果RSD为1.4%。

2.4 干扰因素的考察

取缺人参的成药,照补益口服液制备方法制成一定体积的溶液,同供试品液处理法制成空白对照液,依法展开,显色,扫描测定,结果在人参皂甙 Rg_1 相应的色谱位置处无吸收,表明其它组分对人参皂甙 Rg_1 的测定无干扰。

2.5 加样回收试验

精密量取已知含量的补益口服液样品9.0 ml,再精密加入3.60 mg/ml人参皂苷 Rg_1 对照品液0.4、0.6、0.8、1.0、1.0 ml,依法提取测定,见表1。平均回收率为98.80%,RSD=0.69%。

表1 人参皂苷加样回收试验结果

序号	样品含有量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
1	1.668 6	1.44	2.967 0	98.70
2	1.668 6	1.80	3.458 2	99.70
3	1.668 6	2.88	4.528 6	99.30
4	1.668 6	3.60	5.163 2	98.00
5	1.668 6	3.60	5.210 8	98.40

2.6 样品测定

各取供试样品10 ml,批号为020406、020407、020408、020505、020506,用乙醚提取2次,每次15 ml,弃去乙醚液,水溶液继用水饱和的正丁醇提取2次,每次15 ml,合并正丁醇液,加水5 ml振摇洗涤,弃去水液,取正丁醇液蒸干,残渣加甲醇2 ml使溶解,作为供试品溶液。另精密吸取5批供试品液4 μl与对

作者简介:杨万兴(1957-),男,重庆市人,副主任药师,主要从事中药制剂方面的研究。电话:(023)68757386
收稿日期:2003-06-05;修回日期:2003-10-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

照品液2.0、4.0μl，分别交叉点于5块硅胶G薄层板上，依法展开，显色，扫描测定，结果见表2。

表2 样品实验测定结果

批号	峰面积	含量(mg/ml)
020406	1114.092	0.1821
020407	1173.734	0.1902
020408	1124.764	0.1836
020505	1145.096	0.1864
020506	1130.583	0.1844

平均含量为0.1854mg/ml，RSD=2.0%，n=5

3 讨论

曾试过正丁醇-乙酸乙酯-水(4∶1∶5)，氯仿-甲醇-乙酸乙酯-水(5∶3∶2∶2)为展开剂，展开效果均不理想[2]，采用本研究所用展开剂，阴性均无干扰，Rf值约为0.6；且为克服边缘效应，采用浸满展开剂的滤纸壁贴层析缸来克服。

采用薄层扫描法测定补益口服液中人参皂苷Rg_1含量，方法简便，薄层分离清晰，斑点圆整，结果准确，可作为本制剂的质量检测手段。

关键词：人参皂苷Rg_1；薄层扫描法；含量测定

中图法分类号：R927.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] 刘靖华，陈惠孙，胡傀耀，等. 人参皂矿甙对创伤失血性休克免疫功能的调节作用[J]. 第三军医大学学报，2000，22(4)：324—327.

[2] 丘小惠. 益气回阳注射液中人参皂甙Rg_1的含量测定[J]. 药物分析杂志，1998，18(2)：92.

(编辑 薛国文)

(上接2242页)

2.3 血leptin检测结果

对照组(0.766±0.305) ng/ml，实验组(5.983±1.474) ng/ml。实验组明显高于对照组(P<0.05)。

2.4 咽部组织的免疫组化标记观察结果

2.4.1 咽部组织中leptin的表达情况 Leptin在实验组咽部的各组织成分中呈强阳性表达，其中腺体周边部位表达最强。Leptin在对照组中呈弱阳性表达。

2.4.2 咽部组织中leptin受体(Ob-R)的表达情况 实验组咽部的各种组织成分中均有Ob-R强阳性表达，对照组中Ob-R呈弱阳性表达。

3 讨论

据统计，大约80%的OSAHS患者体形肥胖，并由此导致上气道粘膜下脂肪组织浸润，使上气道的形态和顺应性发生改变，从而引发OSAHS。与单纯性肥胖者相比较，这类患者的共同点是都存在内源性高leptin血症，这说明OSAHS是导致血leptin水平升高的直接因素[4]。本实验排除了肥胖因素，但实验组动物同样出现了内源性高leptin血症，这验证了文献[4]中的结论，即OSAHS可以独立导致高leptin血症。

OSAHS患者最主要的病理生理变化是低氧，它可以引起交感神经兴奋、血管紧张素分泌增加、血压波动等，这些均可以导致leptin水平的升高。这也可能是机体的一种适应性反应：OSAHS患者多存在脂代谢异常，而血leptin水平升高不仅可以在一定程度上对抗这种变化，还可能具有直接刺激呼吸中枢，防止呼吸抑制的作用[2~4,6]。从另一个角度来看，血清中的高leptin水平可能标志着脑脊液中leptin的低水平状态，因此也从侧面反映了OSAHS患者中leptin抵抗的存在。

本研究表明实验组的咽部组织中leptin表达明显较对照组增强，患者出现内源性高leptin这可能是机体对脂代谢紊乱的全身性反应在局部的表现，有助于防止和减轻咽部组织中的脂肪浸润。此外，leptin可能还具有在外周组织中不经过中枢性反馈而直接调节脂质代谢的作用。

实验组咽部组织中Ob-R表达较对照组增强，说明除了下丘脑以外，外周组织中也存在leptin受体，故leptin可能具有直接性外周作用。这也可能是机体相应于局部组织中leptin表达增加的反应。但由于OSAHS患者可能存在leptin抵抗(如受体后缺陷)，因此Ob-R的功能及其表达增加对改善呼吸的作用究竟如何，还尚难肯定。

关键词：阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征；脂质代谢；瘦素

中图法分类号：R563.802 文献标识码：B

参考文献：

[1] 孙志娟，黄之瑜. 肥胖的研究进展[J]. 生理科学与临床，2001，32(1)：39—44.

[2] Tsuchiya T，Shimizu H，Horie T，*et al*. Expression of leptin receptor in lung：leptin as a growth factor[J]. Eur J Pharmacol，1999，365(2-3)：273—279.

[3] O'Donnell C P，Schaub C D，Haines A S，*et al*. Leptin prevents respiratory depression in obesity[J]. Am J Respir Crit Care Med，1999，159(5 Pt 1)：1477—1484.

[4] 金光明，王 玮，康 健. 阻塞性睡眠呼吸暂停患者血清瘦素水平的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志，2002，25(4)：204—206.

[5] 叶京英，韩德民，张永杰. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者上气道的形态学研究[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志，2000，35(4)：278—281.

[6] Chin K，Shimizu K，Nakamura T，*et al*. Changes in intra-abdominal visceral fat and serum leptin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrom following nasal continuous positive airway pressure therapy[J]. Circulation，1999，100(7)：706—712.

(编辑 张 宁)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net