

薄层扫描法测定回生片中两头尖皂苷 D 的含量

王兆华, 耿 莉, 张大军, 赵玉兰, 杨映霞
(吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要: 目的: 建立回生片中两头尖皂苷 D 的含量测定方法。方法: 采用双波长薄层扫描法测定两头尖皂苷 D 的含量; 结果: 平均回收率为 97.49%, RSD 为 1.53%; 结论: 本方法准确、重复性好, 可作为回生片质量控制的方法。

关键词: 薄层扫描法; 两头尖皂苷 D; 含量测定; 回生片

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)03-0020-02

回生片是由两头尖、白花蛇舌草、白芍、川楝子等 12 味中药组成的复方制剂, 具有解毒化瘀, 行气健脾的功效, 适用于肝癌及胃癌等恶性肿瘤属于热毒内蕴, 气滞血瘀型者。方中两头尖为君药, 具有消

痈肿的功效, 两头尖皂苷 D 为两头尖中主要的抑制肿瘤的活性成分, 本文采用薄层扫描法对回生片中两头尖皂苷 D 的含量进行了测定。

1 仪器和试剂

岛津 CS-9301PC 型双波长扫描仪(日本); 定量点样毛细管(美国); 赛多利斯电子天平(德国); 两头尖皂苷 D 对照品(长春中医学院中药化学教研室提

收稿日期: 2004-05-20

通讯作者: 王兆华, (0431) 6816838

供);回生片(长春中医学院药厂提供);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层层析与扫描条件 硅胶 G 预制薄层板(青岛海洋化工厂);展开剂为正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:1),展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,100 °C 烘约 5min,至斑点显色清晰,在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定;反射式双波长锯齿扫描,测定波长: $\lambda_s = 525\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$;线性化参数 $SX = 3$;光束狭缝: $0.4\text{mm} \times 0.4\text{mm}$ 。

2.2 对照品溶液的配制 精密称取两头尖皂苷 D,加甲醇制成每 1mL 含 0.4mg 的溶液。

2.3 稳定性试验 供试品溶液点样展开、显色后,每隔 30min 测定 1 次,结果供试品在 150min 内,斑点面积积分值稳定,计算 $RSD = 1.64\%$ 。

2.4 标准曲线的绘制 用定量毛细管精密吸取对照品溶液 1 2 3 4 5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,依法展开、显色测定。线性方程为: $Y = 20169.47X - 2556.54$, $r = 0.9989$,表明两头尖皂苷 D 在 0.4~ 2 μg 范围内线性关系良好。

2.5 阴性试验 按处方比例称取缺两头尖的其他药味,按标准规定的制法制得阴性样品,按供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液,再按供试品测定方法测定,结果表明其他药味对两头尖皂苷 D 测定无干扰。

2.6 精密度试验 同板精密度试验:依本法对同一薄层板上 5 个相同点样量的两头尖皂苷 D 斑点进行扫描测定,计算 $RSD = 1.01\%$ ($n = 5$)。板间精密度试验:依本法对不同薄层板相同点样量的两头尖皂苷 D 斑点进行扫描测定,计算 $RSD = 1.89\%$ ($n = 5$)。

2.7 重复性试验 按供试品测定方法对同一批号的回生片样品平行测定 5 次,平均值 0.302mg/片, $RSD = 1.91\%$ ($n = 5$)。

2.8 加样回收率试验 准确称取已知含量的回生片样品 5 份,分别精密加入一定量两头尖皂苷 D 对照品,按样品测定方法制得供试品溶液,并展开、扫描测定,结果见表 1。平均回收率为 97.49%, $RSD = 1.53\%$ ($n = 5$)。

2.9 供试品溶液的制备和测定 取本品 20 片,精密称定,研细,取约 2g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 150mL 浸泡过夜后,加热回流提取 4h,提取液蒸干,残渣加适量水溶解,转移至分液漏斗中,先

以乙醚萃取 2 次,弃去乙醚液,再以水饱和正丁醇萃取 3 次,合并正丁醇液,继以正丁醇饱和的氨试液洗涤 2 次,弃去氨试液,回收正丁醇至干,残渣加适量甲醇使溶解,并定容至 5mL 量瓶中,摇匀,作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 3 μL ,对照品溶液 1 μL 和 4 μL ,分别交叉点于同一薄层板上,按薄层层析与扫描条件测定,以外标两点法计算含量,见表 2。

表 1 两头尖皂苷回收率试验测定结果

No	样品中 含量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	1.217	1.45	2.654	99.12		
2	1.288	1.25	2.581	98.40		
3	1.266	1.46	2.694	97.78	97.49	1.53
4	1.241	1.52	2.689	95.26		
5	1.270	1.56	2.781	96.87		

表 2 不同批号回生片中两头尖皂苷 D 的含量 ($n = 5$)

批号	含量(mg/片)
010301	0.342
010318	0.328
010326	0.351

3 讨论

本实验采用双波长薄层扫描法测定了回生片中两头尖皂苷 D 的含量,本方法灵敏可靠,重复性好,可有效地控制成品的质量。

供试品溶液制备中,对提取方法进行了选择试验。首先将样品以甲醇为溶剂,采用索氏提取的方法制得供试品溶液。进行含量测定时,供试品色谱中,两头尖皂苷 D 分离不好,不能达到基线分离。根据两头尖皂苷的性质,采用甲醇索氏回流提取、乙醚脱脂、饱和正丁醇萃取、正丁醇饱和氨试液洗脱的方法纯化样品,经过对浸泡(浸、不浸)、回流提取时间(3、4、5h)、水饱和正丁醇萃取次数(2、3、4、5次)、正丁醇饱和氨试液洗脱次数(1、2、3次)等条件进行考察试验,确定 2.9 中供试品溶液的制备方法,可以除去大量杂质并能达到基线分离,提高了测定的精密度。

实验时,由于供试品溶液中有多种其他成分,用水饱和正丁醇提取时会产生乳化现象,必要时可采用离心方法破乳(4000 转/分,离心 5min),否则提取不完全,会影响含量测定结果。

参考文献:

- [1] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社,1999. 5679-5682.
- [2] 李超生,潘书洋,韩伟亭. 反相高效液相色谱法测定不同产地两头尖中竹节香附素 A 的含量[J]. 药物分析杂志,1999,19(1): 22-23.