

回收率。结果平均回收率为 99.79%，RSD 为 1.96% ($n=5$)。

2.10 样品的测定：取淫羊藿苷对照品溶液(0.06 mg/mL)、供试品溶液各 10 μ L，进样，测定色谱峰面积，以外标法计算，色谱图见图 1，结果见表 1。

表 1 复方益肾颗粒中淫羊藿苷的含量 ($n=3$)
Table 1 Determination of icariin in Compound Yishen Granula ($n=3$)

批 号	淫羊藿苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
I	1.185	2.03
II	1.209	2.28
III	1.125	1.92

3 讨论

本实验采用 HPLC 法能达到有效分离各组份的目的，且阴性对照试验证明在淫羊藿苷色谱峰处其他成分无干扰。本法具有灵敏度高、操作简单、分

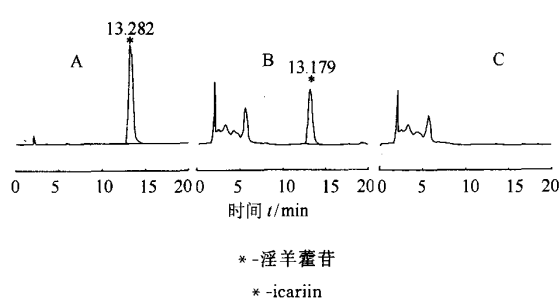


图 1 淫羊藿苷对照品(A)、复方益肾颗粒(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of icariin reference substance (A), Compound Yishen Granula (B), and negative sample (C)

离效果好等优点，可作为复方益肾颗粒的含量测定质量控制标准。

薄层扫描法测定紫龙金片中黄芪甲苷的含量

郭景强¹，牛瑞杰²，黄桂芬²

(1. 天津市药品检验所，天津 300070；2. 天津隆顺裕制药厂，天津 300232)

紫龙金片为国家药品监督管理局于 2001 年批准生产的三类抗癌中药，具有益气养血、理气化痰之功效。适应于原发性肺癌气血两虚证或兼有瘀热的化疗患者，能够显著改善生活质量，提高免疫功能，减轻化疗引起的白细胞下降和肝肾毒副反应之功效。紫龙金片由黄芪、丹参、龙葵、郁金等药物组成。方中君药黄芪益气养血、脱毒，主要含有黄芪皂苷、异黄芪皂苷和大豆皂苷等皂苷类成分及多糖类成分、黄酮类成分、氨基酸和无机盐等。在黄芪有效成分的含量研究方面，主要是对其中所含黄芪甲苷进行测定，其中以黄芪甲苷的薄层色谱法测定较为成熟，故本实验对该制剂中的黄芪甲苷含量采用薄层色谱法测定。

1 仪器与材料

岛津 CS—9301 薄层扫描仪，高效薄层板(烟台化工研究所)，试剂均为分析纯，紫龙金片由天津中新药业集团股份有限公司隆顺裕制药厂(原天津中药制药厂提供，批号：0302016，黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所，批号：781-9001，供含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备：精密称取黄芪甲苷对照品适量，用甲醇溶解，配制成 0.4 mg/mL 的溶液，作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备：取本品 20 片，去除薄膜包衣，称定质量，研匀，精密称取 4 g，置索氏提取器中，加甲醇适量浸泡过夜，加热回流提取至无色，回收甲醇至干，加 15 mL 水使溶解，用醋酸乙酯提取 2 次(20 mL×2)，弃去醋酸乙酯层，水层再用水饱和正丁醇提取 3 次(20 mL×3)，合并正丁醇液，用氨试液洗涤 3 次(20 mL×3)，弃去氨试液，正丁醇液蒸干，加甲醇使溶解，转溶于 2 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，作为供试品溶液。

2.3 阴性供试品溶液的制备：除黄芪外，按本方工艺制备样品，照供试品溶液制备方法进行处理，制得阴性供试品溶液。

2.4 测定方法：照薄层扫描法(《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 V B)实验，分别吸取黄芪甲苷对照品溶液 4、6 μ L，供试品溶液 4 μ L，阴性供试品溶液 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 高效薄层板上，

以氯仿-甲醇-水(7:3.5:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105℃烘5 min,取出,在薄层板上覆盖同板大小的玻璃板,周围用胶布固定,扫描。测定供试品的吸光度积分值与对照品吸光度积分值,按外标二点法计算即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系的考察:用定量毛细管精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(0.458 mg/mL) 1、2、3、4、5、6 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,展开,晾干后,经显色进行扫描测定。以点样量为横坐标,斑点的吸光度积分值为纵坐标,进行回归处理,得回归方程 $Y=1\ 167.938+27\ 044.445 X$, $r=0.998\ 8$,线性范围 0.458~2.748 μ g。

2.5.2 重现性试验:取同批样品,去除薄膜衣,研细后,精密称取5份各4 g,按供试品溶液的制备方法处理后,进行扫描,黄芪甲苷平均质量分数为0.160 mg/片, $RSD=2.410\%$ 。

2.5.3 稳定性试验:以供试品溶液点样,展开,显色后每隔25 min测定斑点吸光度积分值, RSD 为1.98%。结果表明,黄芪甲苷在2 h内基本稳定。

2.5.4 同板精密度试验:分别吸取等量供试品溶液5份,点于同一硅胶G板上,测定斑点吸光度积分值, $RSD=2.48\%$ 。

2.5.5 异板精密度试验:分别吸取等量供试品溶液5份,对照品溶液4、6 μ L,分别点于5块硅胶G薄层板上,测定斑点吸光度积分值,计算样品中黄芪甲

苷的质量分数, $RSD=4.69\%$ 。

2.5.6 回收率试验:精密称取黄芪甲苷0.160 mg/片的样品5份各1.7 g,分别加入黄芪甲苷对照品溶液(0.458 mg/mL)各1 mL,按供试品溶液制备方法操作,测定,结果平均回收率为96.113%, $RSD=1.910\%$ 。

2.6 样品测定:取3批样品,按供试品溶液的制备方法制备溶液,按上述测定方法测定吸光度积分值,两点法计算样品中黄芪甲苷的质量分数,分别为0.125、0.129、0.130 mg/片。

3 讨论

3.1 供试品处理方法的研究:①采用正丁醇萃取后甲醇定容、点样,杂质背景深;②正丁醇萃取, D-101树脂洗脱,蒸干,定容,点样,柱上有残留;③氯仿萃取,正丁醇萃取,蒸干,定容,点样,杂质背景较深;④醋酸乙酯萃取,正丁醇萃取,氨水洗脱,蒸干,定容,点样,效果较为理想。

3.2 薄层板的选择:采用普遍高效硅胶G薄层板,因其显色剂(10%硫酸乙醇)反应加热后板面变黑而影响扫描;改用手铺板(以水为黏合剂),板面虽不与显色剂反应,但因板面太软,点样难度加大,误差大。

3.3 展开剂的选择:先后采用氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)下层液,氯仿-甲醇-水(13:7:2)下层液为展开剂,经多次试验,发现主斑点的 R_f 值受展开剂中甲醇和水比例的影响较大,因此将水完全溶解在氯仿-甲醇之中,展开效果甚为理想。

(上接第191页)

较高场外出现一对($J=10.8$ Hz)双峰,这是 C_4 上有平伏亚甲基质子的特征信号^[5]。另 ^{13}C -NMR谱中出现 $\delta 14.20$ 的 $C-24$ 信号,而非 $\delta 23.0$ 左右的 $C-23$ 信号,证明了 $C-23$ 有羟基取代。故而化合物Ⅵ确定为 $2\alpha,3\alpha,23$ -三羟基-乌苏-12-烯-28-酸。

化合物Ⅶ:白色粉末, $mp\ 263\sim 265\ ^\circ C$, EI-MS 给出的分子离子峰 $m/z:488[M]^+$ 。化合物Ⅶ的 1H -NMR中 C_3 上羟基的同碳质子的二重峰的共振信号 $\delta 3.55(d, J=10.2\ Hz)$ 提示在 C_2 上也有羟基存在,而且 C_2 和 C_3 二质子之间为 $a-a$ 或 $e-e$ 偶合,即 $2\alpha-H$ 和 $3\beta-H$ 或 $2\beta-H$ 和 $3\alpha-H$ 。 ^{13}C -NMR谱中的连羟基碳化学位移值: $\delta 68.58(CH)$, $\delta 85.65(CH)$, $\delta 65.63(CH_2)$ 是这类化合物 A 环上处于 $2\alpha,3\beta$ 和 23 位羟基取代后的连氧碳的化学位移值^[6],故化合物Ⅶ确定为 $2\alpha,3\beta,24$ -三羟基-12-烯-28-乌苏酸。

4 讨论

对化合物Ⅲ~Ⅶ进行了体外抗肿瘤试验,结果表明,化合物Ⅲ~Ⅶ均有不同程度的细胞毒活性(所用细胞株:Bel-7402、HO-8910、HL-60),化合物Ⅴ的细胞毒活性最强,化合物Ⅵ的细胞毒活性同化合物Ⅶ,但高于化合物Ⅲ和Ⅳ。以上实验说明,总序香茶菜有广泛的开发利用前景。

References:

- [1] Shun H D, Xu Y L, Jiang B. *Biterpenoids from Isodon Species* (香茶菜属植物二萜化合物) [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [2] Liu C Y, Yue Z H. Studies on the chemical constituents of *Rabdosia racemosa* (Hemsl.) Hara [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 6(28): 334.
- [3] Bai S, Huang C, Chen X, et al. Studies on the chemical constituents of the aerial parts of *Actinidia eriantha* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(2): 67-69.
- [4] Shashi B M, Asish P K. ^{13}C -NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
- [5] Huang C S, Zhang Z X, Li G S, et al. Isolation and identification of two new triterpenoids from *Actinidia eriantha* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1988, 10(1): 93-100.