

CAMG 薄层扫描法测定不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量

★ 葛慷艳 张群智 (浙江省临海市中医院 临海 317000)

摘要:目的:测定不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量。方法:采用薄层扫描法测定黄芪甲苷的含量。展开条件:氯仿-甲醇-水(26:12:4)的下层液,10%硫酸乙醇显色,单波长薄层扫描, $\lambda = 536 \text{ nm}$ 。结果:方法学考察结果表明,黄芪甲苷的线性范围为 $0.8080 \sim 4.848 \mu\text{g}$ ($r=0.9991$);同板精密度实验的 RSD 为 1.95%;3 小时内稳定性试验的 RSD 为 0.79%;重复性试验的 RSD 为 3.13%;加样回收率为 99.92%, RSD 为 2.17%。结论:该方法测定结果准确稳定,重现性好;各产地黄芪中黄芪甲苷含量间变异较大,其中甘肃产黄芪平均质量较优。

关键词:黄芪甲苷;TLC;CAMG

中图分类号:R 927.2 文献标识码:A

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根,主要含有皂苷类、多糖、氨基酸和微量元素等^[1]。黄芪皂苷是黄芪药效物质基础的重要组成部分之一,其中黄芪甲苷(ASI)为活性指标成分,具有抗衰老、调节免疫功能、保护心肌和大脑缺血等作用。目前市售黄芪药材多为栽培,而野生较少,因此不同来源药材之间黄芪甲苷含量有较显著的差异,从而影响药材的质量。曾使用高效液相色谱-紫外检测法测定黄芪甲苷含量,但由于其仅在 200 nm 处有弱的末端吸收,因而操作条件十分严格,噪音对结果影响较大,灵敏度也较差,而 CAMG 薄层扫描法不受紫外下无吸收成分的影响,且重现性好,是一种良好的黄芪甲苷含量测定方法,本实验采用该法对不同产地黄芪中黄芪甲苷含量进行测定,为黄芪药材质量控制提供实验依据^[2]。

1 仪器、试剂与样品

仪器:瑞士 CAMAG TLC Scanner, CAMAG 半自动点样仪。

试剂与样品:硅胶 G 薄层预制板(青岛海洋化工厂),黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所 0781-20008);其余所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备 精密称取本品内容物 6.2375 g,置圆底烧瓶中,加入甲醇 60 ml,80 °C 回流提取 4 小时,滤过,残渣同法提取 2 小时,滤过,合并滤液,滤液水浴蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,水溶液用水饱和的正丁醇萃取 4 次(30、30、20、20 ml),合并正丁醇液,然后用氨试液洗涤 2 次(20、20 ml),再用正

丁醇饱和的水萃取 2 次(20、20 ml),正丁醇挥干,残渣用甲醇定容至 10 ml,作为供试品^[3]。

2.2 对照品的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 10.10 mg,配成 25 ml,作为对照品溶液。

2.3 色谱分析条件 展开条件:氯仿-甲醇-水(26:12:4)的下层液。喷以 10% 硫酸乙醇,105 °C 显色 5~7 分钟。反射法锯齿型单波长薄层扫描, $\lambda = 536 \text{ nm}$,扫描速度,10 nm/step,分辨率,25 μm 。

2.4 空白试验 取不含黄芪的阴性样品,按样品溶液制备供试品,测定,结果空白无干扰。

2.5 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μl ,分别点于同一个硅胶 G 板上,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液显色后进行测定,以峰面积积分值 Y 为纵坐标,以点样量(μg) X 为横坐标作标准曲线: $Y = 18511 + 9083X$, $r = 0.9991$ 。说明黄芪甲苷在 0.8~4.8 μg 范围内线性关系良好。

2.6 稳定性实验 对同一个对照品斑点,分别在 0、30、60、90、120、150、180 分钟扫描一次,连续 7 次。样品稳定性 $RSD = 0.79%$;标准品稳定性: $RSD = 0.87%$ 。说明本品在 3 小时内稳定

2.7 精密度试验 ①同点精密度(仪器精密度)对同一斑点连续扫描 5 次,分别测定峰面积, RSD 为 0.72%。

②同板精密度 取样品溶液,在同一薄层板上点样 5 次,分别测定峰面积, RSD 为 1.95%。

③异板精密度 在 5 块不同板上点同样量同一浓度的对照品,测定其峰面积, RSD 为 2.52%。

2.8 重现性实验 吸取 6 份供试品溶液 4 μl ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,依法测定含量, RSD 为

中西医对围手术期大肠癌免疫影响的治疗近况

★ 彭成 指导:李夏鲁 (广西中医学院 2006 级硕士研究生 南宁 530001)

关键词:大肠癌围手术期;免疫;中西医疗法;综述

中图分类号:R 273 文献标识码:A

大肠癌是包括自盲肠至直肠的整个肠段的癌肿,是常见的恶性肿瘤,在古代中医典籍描述中,类似于“肠覃”、“脏毒”、“锁肛痔”、“下血”、“下痢”、“滞下”等疾病。大肠癌由于早期临床症状不明显,早期诊断率较低,到临床症状明显时,已多属中晚期。大肠癌的治疗,目前仍以手术切除为首选和化疗、放疗、生物治疗。大肠癌手术切除率和治愈率有了一定的提高,但还是有 50% 患者发生转移和复发,术后发生肝转移率为 50%,死于肝转移者达 60%~90%。美国癌症联合会(AJCC)根据第 5 版

结肠癌分期标准,统计 119363 例结肠癌 I、II、III、IV 期 5 年生存率分别为 93.2%、82.5%、59.5%、8.1%。由于手术及麻醉均能引起机体的免疫功能紊乱,出现免疫功能抑制^[1]。手术打击可以加深免疫抑制,所以围手术期提高患者免疫力可以尽快解除免疫抑制。尽早实行化疗、放疗等其他治疗希望有助于减少转移和复发,延长患者生存期。笔者复习相关文献,探讨当前中西医治疗提高大肠癌免疫力的现状和研究思路。

1 影响围手术期大肠癌免疫的因素

笔者曾经按《中国药典》2005 年版中黄芪药材中黄芪甲苷的提取、纯化方法,但比较繁琐^[3],用 HPLC 的方法进行了黄芪甲苷的含量测定,结果噪声比较大,测出的结果重现性差,因此本研究对样品制备方法进行了改进,不使用 D101 大孔树脂进行分离,反而黄芪甲苷的含量要高出 10% 左右,说明用大孔树脂进行分离过程中会使一部分有效成分损失。因此本研究采用改进后方法对不同产地的黄芪进行考察,简化了药材的前处理过程,使得药材的分析速度加快,同时也减少黄芪甲苷的损失。通过对不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量进行比较,结果表明不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量有一定的差异,其中甘肃产黄芪平均质量较优。

参考文献

- [1] 中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科技出版社,1999.
- [2] 刘艳,付超美,王世宇,等. 薄层扫描法测定强骨颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 成都中医药大学学报,2008,27(2):102-104.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:212.

(收稿日期:2009-05-22 责任编辑:查青林)

3.13%。

2.9 回收率试验 见表 1。

表 1 已知含量样品的回收试验 /mg

编号	样品含量	加入量	测得量	回收率 %	平均值 %	RSD %
1	0.234	0.4	0.6294	0.9886		
2	0.228	0.4	0.6275	0.9988		
3	0.234	0.4	0.6479	1.0348	99.92	2.17
4	0.234	0.4	0.6247	0.9768		
5	0.233	0.4	0.6319	0.9973		

2.10 样品的测定 取不同产地的药材,按照供试品液制备项下方法操作,得供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液 2 μl,按照上述条件分析测定,结果见表 2。

表 2 不同产地黄芪样品中黄芪甲苷的含量(n=3)

编号	样品来源	品种	产地	黄芪甲苷含量 mg/g
1	成都荷花池药材市场	膜荚黄芪	甘肃	1.23
2	河北安国药材市场	膜荚黄芪	甘肃	1.35
3	安徽亳州药材市场	膜荚黄芪	甘肃	1.58
4	河北安国药材市场	蒙古黄芪	内蒙古	1.43
5	成都荷花池药材市场	蒙古黄芪	内蒙古	0.63
6	安徽亳州药材市场	膜荚黄芪	山西	1.14
7	台州某大药房	膜荚黄芪	山西	0.54
8	台州某大药房	膜荚黄芪	河北	1.26

3 讨论