

Determination of Ginsenoside Re in Shengmai Injection by HPLC

Wen Liyu, Yu Yang, Li Binggen (Yangzhou Institute for Drug Control, Yangzhou 225001)

Xu Boyi, Chen Zhiqing, Hu Yue (Jiangsu Suzhong Pharmaceutical Factory)

Abstract Ginsenoside Re in Shengmai Injection was directly determined by HPLC. Acetonitrile-0.05% phosphoric acid (19 : 81) was used as the mobile phase on C₁₈ column. Detection wavelength was 203 nm. Results indicated that the linearity of this method was well with an average of 97.38%, and RSD 1.83%. The method can be used for the assay and quality control of Shengmai Injection.

Key Words HPLC Shengmai Injection Ginsenoside Re

冬凌草叶中齐墩果酸的提取分离及含量测定[△]

河南中医学院中药系(郑州 450003) 袁珂*

摘要 对冬凌草叶中的齐墩果酸进行了提取分离,并以标准品作对照,采用薄层扫描法对其进行含量测定。方法简便,结果稳定,重现性好,加样回收率为 97.73%。

关键词 提取分离 薄层扫描 含量测定 齐墩果酸

冬凌草为唇形科香茶菜属植物 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara。冬凌草中的主要有效成分为萜类化合物,三萜中的主要有效成分为齐墩果酸和熊果酸。据文献报道^[1],齐墩果酸具有抑菌、保肝、护肝、降酶、升白细胞、增强机体免疫功能等方面的作用,是当前治疗肝炎的有效药物之一,近年又证明有抗癌活性^[2~4]。

冬凌草是河南省的一大植物资源,且相当丰富。我们对冬凌草叶中的有效成分齐墩果酸进行了提取分离和含量测定研究,为进一步扩大开发利用提供参考依据。

1 仪器与试剂

冬凌草叶于 1996-09 采自河南省济源太行山区,由本院标本室王中会副教授鉴定。

齐墩果酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。

CS-9301 双波长薄层扫描仪(日本岛津),点样定量毛细管(Drummond Scientific CO USA),PBQI 型薄层自动铺板器,中草药

破碎提取器(自制,已获国家实用新型专利),层析柱(加工定做)。

柱层析硅胶(150~200 目)及薄层层析硅胶 G(青岛海洋化工厂生产);粉状活性炭、石油醚、乙酸乙酯、氯仿、丙酮、甲醇均为分析纯。提取用乙醇为 95% 的工业酒精。

2 提取与分离

2.1 提取:称取一定量冬凌草叶,用 10 倍量 95% 乙醇置提取器中,破碎提取 2 min,提取后的药材已完全破碎成了匀浆状,抽滤,将滤液真空浓缩至浸膏状,待做分离用。

2.2 分离:分离冬凌草叶中齐墩果酸的传统方法,即通过硅胶干柱层析法,以一定比例的氯仿-丙酮为洗脱液进行洗脱,可得到齐墩果酸结晶。该法所用的溶剂毒性较强,且极易挥发,价格也较高。该法仅适合小量样品制备,不适合大量生产。为此作者对该法进行了改进,洗脱液改用一定比例的石油醚-乙酸乙酯,经实验证明,改进后的方法切实可行。

将由上述方法得到的提取物浸膏用适量

* Address: Yuan Ke, Department of Chinese Materia Medica, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou
△ 河南省科技攻关资助课题

无水乙醇溶解,加2%活性炭回流脱色处理。抽滤,除去活性炭后继续减压浓缩至一定量,加适量层析用硅胶吸附、拌匀、蒸干、研碎成粉装柱,以一定比例的乙酸乙酯-石油醚为洗脱液^[5],10~15 mL/min的流速进行洗脱,按每份200 mL收集,TLC检识,相同流份合并。回收溶剂,回收后的溶剂可反复使用。在25~42流份中可得到齐墩果酸,为白色针状结晶,mp 298 C~303 C。

2.3 TLC分析:取齐墩果酸对照品加甲醇溶解配成1 mg/mL的溶液作为层析用对照品溶液。另取由上述分离得到的结晶加甲醇溶解,配成1 mg/mL的溶液作为层析用样品溶液。取一定量对照品溶液及样品溶液点于自制的硅胶G薄层板上,分别以乙酸乙酯-石油醚(1:3)及氯仿-丙酮(8:2)为展开剂展开,取出挥去溶剂,喷以20%硫酸乙醇溶液显色后,于105 C加热5 min至斑点清晰。结果表明,在两种不同的展开系统下,样品与齐墩果酸对照品具有相同的Rf值,并呈现同样的紫红色斑点。

3 齐墩果酸的含量测定

3.1 薄层层析条件及扫描条件:吸附剂:硅胶G-0.3%CMC-Na搅拌均匀后涂布于玻璃板(10 cm×20 cm)上,厚度为0.5 mm,置室温干后于105 C活化1 h,置干燥器中备用。展开剂:乙酸乙酯-石油醚(1:3),展开方式:上行展开,展距18 cm。显色剂:20%硫酸乙醇液,喷湿润,100 C~105 C烘烤5 min,至斑点清晰,放凉后,在紫外灯(365 nm)下定位,Rf值在0.25左右。

采用反射法单波长锯齿扫描法,狭缝0.4 mm×0.4 mm,线性参数Sx=3,灵敏度中,测定波长λs=330 nm。

3.2 对照品溶液和样品溶液的制备:精密称取齐墩果酸对照品1.09 mg,置1 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至剂度。

精密称取经干燥的冬凌草叶10 g,研细并过60目筛后置索氏提取器中,以甲醇提取至近无色(10 h),将提取液浓缩至适量,用甲

醇转移至10 mL容量瓶中定容至刻度。

3.3 线性化范围试验:用定量毛细管吸取上述对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 μL点于同一块硅胶G薄层板上,展开,取出晾干,喷以显色剂,烘烤至出现紫红色斑点,放置30 min后进行扫描测定。以齐墩果酸量(μL)为横坐标,以斑点峰面积值为纵坐标作图,得一不通过原点的直线,求得回归方程Y=242.983X-76.865,r=0.9987(n=5),见表1。结果表明齐墩果酸在1.09~5.45 μg范围内,与其峰面积值呈良好的线性关系。

表1 齐墩果酸点样量与峰面积值关系

编号	对照品点样量(μg)	测得峰面积值
1	1.09	190.039
2	2.18	445.555
3	3.27	740.592
4	4.36	950.366
5	5.45	1261.890

3.4 稳定性及精密度试验:取齐墩果酸对照品点样2 μL,展开,显色后,每隔30 min测定一次峰面积,结果在2 h内斑点面积值基本稳定。用定量毛细管取对照品溶液2 μL于同一块薄层板上点相同浓度5个点,展开,显色,扫描,结果RSD=2.34%(n=5)。

3.5 含量测定结果:吸取样品溶液2 μL点于硅胶G薄层板上,随行点对对照品溶液1 μL和3 μL,展开,显色,扫描,用外标两点法计算出样品中齐墩果酸的含量,结果见表2。

表2 样品中齐墩果酸含量测定结果

编号	齐墩果酸含量(%)	平均含量(%)	变异系数(%)
1	0.612		
2	0.623		
3	0.616	0.621	1.06
4	0.628		
5	0.625		

3.6 加样回收率试验:取2 μL对照品溶液点于硅胶G薄层板上,共4个点,在前两个点上分别加点2 μL、后两个点分别加点4 μL已测定含量的样品溶液,另在同一板上随行点对对照品溶液2和4 μL,展开,显色,扫描,结果回收率为97.73%(n=4),RSD=1.51%。

4 讨论

4.1 本法采用室温破碎提取,不破坏有效成分,并且仅需 2 min 提取已基本完全,由于提取快速、充分、完全,所以提出的杂质少,色浅,且极易脱色,使得分离出的单体纯净,易结晶。因此采用破碎提取法可节省大量的时间、溶剂和能源。

4.2 分离方法与传统方法相比有改进,新方法中所用的溶剂为乙酸乙酯、石油醚,这些溶剂与传统法中所用的溶剂相比,具有无毒,无污染、安全、价廉、易得等优点,可供工业化生产参考。

4.3 采用薄层扫描法测定齐墩果酸的含量,方法简便,快速准确,结果稳定,重现性好,回收率达 97.73%。

致谢:在本研究中,本院中药系毕业实习生周小雷、李福臣、敬林林参加部分实验工作,在此一并致谢。

参考文献

- 1 孙燕,等. 中国临床药理学杂志,1988,4(1):26
- 2 CA,1969,71:28933 w
- 3 CA,1969,71:58886 a
- 4 CA,1978,89:102303 f
- 5 马英丽,等. 中草药,1993,24(4):186

(1997-06-06 收稿)

HPLC 法测定马钱子及伤科七味片中 土的宁和马钱子碱的含量

辽宁中医学院(沈阳 110032) 张振秋* 沙明 袁昌鲁
沈阳药科大学 王雅坤

摘要 采用反相高效液相色谱法,ODS 柱,以乙腈-甲醇-水-冰醋酸(40:35:25:0.5)为流动相,同时测定马钱子药材及伤科七味片中土的宁和马钱子碱的含量,数据可靠,结果准确。

关键词 高效液相色谱法 土的宁 马钱子碱

马钱子为常用中药,始载于《本草纲目》,具有通络止痛,散结消肿的功效^[1]。对其有效成分的含量测定多采用紫外光谱法^[2]和薄层扫描色谱法^[3],采用高效液相色谱法测定少见报道^[4]。伤科七味片^[5]是以马钱子为君药,配以三七、血竭等七味中药配制而成,为有效地控制产品质量,对其中土的宁和马钱子碱采用高效液相色谱法进行含量测定。

1 仪器与试药

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,SPD-6VA 可见紫外检测器,C-R 记录仪;马钱子药材经辽宁中医学院中药系鉴定;伤科七味片依法自制;土的宁和马钱子碱对照品均由中国药品生物制品检定所提供,所用试

剂乙腈为色谱纯,其它均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:ODS 柱(6.0 mm × 150 mm),检测波长 254 nm,保留时间 20 min,流动相流速 1.0 mL/min,流动相为乙腈-甲醇-水-冰醋酸(40:35:25:0.3)。

2.2 标准曲线的绘制:取土的宁、马钱子碱对照品精密称定,用甲醇分别制成每毫升含 0.05、0.06 mg 的溶液,作为对照品溶液。

精密吸取马钱子碱和土的宁对照品溶液 1、3、5、7、9 μL 分别进样,测定色谱峰面积,以土的宁和马钱子碱的量为纵坐标,色谱峰面积为横坐标绘制标准曲线,结果在此范围内均呈良好的线性关系,其回归方程土的宁

* Address: Zhang Zhenqiu, Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang