

RP-HPLC 法测定降糖清胶囊中马钱素的含量

南京中医药大学(210029) 李吉峰^{*} 潘 扬 秦小荣 张 弦

摘 要 建立了测定降糖清胶囊中马钱素含量的 RP-HPLC 法,固定相为 Spherisorb-C₁₈[4.6 mm (id)×250 mm] 色谱柱,流动相为甲醇-水(30:70),检测波长为 236 nm;马钱素的平均加样回收率为 96.52%。本法快速、专一、重现性好,为降糖清胶囊质控提供了可靠的检测手段。

关键词 降糖清胶囊 马钱素 RP-HPLC

Determination of Logenin in Jiangtangqing Capsule by RP-HPLC

Li Jifeng, Pan Yang, Qin Xiaorong, et al. (Nanjing University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Nanjing, 210029)

Abstract A reverse-phase HPLC method was described for the determination of logenin in Jiangtangqing Capsule, a prescription containing 12 Chinese herbal drugs including *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. for the treatment of type II diabetes mellitus. The ingredient was separated on a Spherisorb-C₁₈ 4.6 mm (i. d.)×250 mm column, using methanol-water (30:70) as the mobile phase, and detected at UV 236 nm. The method was rapid, specific and with good reproducibility. It can be used for the quality control of Jiangtangqing Capsule.

Key words Jiangtangqing Capsule logenin RP-HPLC hypoglycemic Chinese prescription

降糖清胶囊是南京中医药大学徐士清教授的经验方,原方由山茱萸、麦冬、僵蚕、地骨皮、鬼箭羽等 12 味药材组成,诸药经煎煮、浓缩、纯化、干燥、制粒等制剂过程制成胶囊。本品临床主要用于治疗 II 型糖尿病。其主要组成药物之一山茱萸为山茱萸科植物 *Cornus officinalis* Sied. et Zucc. 除去种子的成熟果实,除含熊果酸、齐墩果酸等三萜类成分外,主要含马钱素(logenin)、马鞭草苷等环烯醚萜苷类化合物^[1]。山茱萸中熊果酸的定量方法药典已有收载^[2],而马钱素的定量方法也有薄层扫描法^[3]、高效液相法^[4],我们探索用灵敏、专属的高效液相色谱法对降糖清胶囊中的马钱素进行含量测定。

1 仪器和材料

1.1 仪器:Waters 高效液相色谱仪 510 泵,

U6 K 进样器,486 可调紫外检测仪;Spherisorb-C₁₈ 柱,4.6 mm (id)×250 mm (中科院大连化学物理研究所);江申通用汉化色谱工作站 for Windows,版本号:3.20(大连江申分离技术公司);Shimadzu Libror AEL 40SM 电子天平;SYZ-A 石英亚沸高纯水蒸馏器(江苏信达仪器厂);H66025 超声波清洗机。

1.2 试剂与药品:甲醇(分析纯);水(重蒸馏,临用前制备)。

马钱素(logenin)为本实验室提取分离,经 UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR 及 LD-MS 确定结构。

山茱萸购于浙江省临安县药材公司,经鉴定为山茱萸科植物 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 除去种子的成熟果实;降糖清

* Address: Li Jifeng, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Nanjing

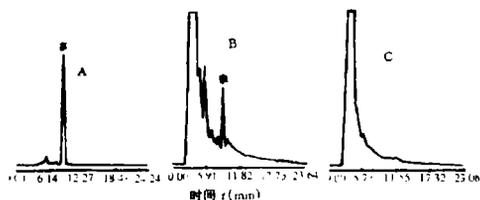
李吉峰 男,1988 年毕业于南京中医药大学中药学院,主管中药师,现为南京中医药大学制药厂生产技术厂长,总工程师。曾先后有十几篇文章发表在各类专业杂志上,现主要从事中药外用药物的研制与开发,作为主要研制者的新药“复方南星止痛膏”获国家级新产品证书。

△江苏省中医管理局资助项目

胶囊及其阴性对照品(按全方去山茱萸配制)由本校制药厂试制。

2 方法和结果

2.1 色谱条件的选择:对马钱素甲醇溶液进行紫外扫描,发现其在 236 nm 处有最大吸收,故选择 236 nm 为样品的检测波长。固定相: Spherisorb-C₁₈ 柱;流动相: 甲醇-水(30:70);流量: 0.8 mL/min;理论塔板数按马钱素计算应不低于 3 000。在此条件下,马钱素与其它组分均能达到良好分离(图 1)。



A-马钱素、B-降糖清胶囊、C-阴性对照

马钱素 A-*t_R* = 8.541 min; B-*t_R* = 8.807 min; C-不出峰

图 1 样品 HPLC 图

2.2 马钱素对照品纯度检查:精密称取马钱素标准品 10.00 mg,用甲醇溶解并定容至 10 mL,吸取上述溶液 20 μ L,注入 HPLC 仪测定,归一化法计算,结果表明:马钱素对照品纯度为 96.89% ($n=5$)。

2.3 提取条件选择:取供试品约 1 g,置具塞离心管内,加 30% 甲醇 5 mL 超声提取 15 min,3 000 r/min 离心 5 min,倾取上清液,过滤。同上操作共 4 次,每次滤液定容至 10 mL,按上述实验条件进样,测定,计算,结果表明:经 4 次提取后即可完全提尽。

2.4 线性关系考察:精密称取马钱素标准品 10.02 mg,用甲醇溶解并定容成 10 mL,作为贮备液;吸取上液 0.25 mL,用流动相稀释并定容成 25 mL,作为对照品液。吸取 6,9,12,15,18 和 21 μ L,注入 HPLC 仪测定,以进样量 $X(\mu$ L) 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,计算回归方程为 $Y=4024+56382X$, $r=0.9999$,表明马钱素在 60.12~210.42 ng 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取上述对照品液 10 μ L,注入 HPLC 仪,重复进行 5 次测定,

计算马钱素峰面积的 RSD 为 1.58%。

2.6 稳定性试验:精密吸取上述对照品液 10 μ L,分别于 0,1,4,8,12,24,36 h 时进样测定,计算马钱素峰面积的 RSD 为 3.87%。

2.7 加样回收率试验:取已知含量供试品,分成 5 份,每份 1 g,精密称定;加入对照品贮备液 0.8 mL(相当于马钱素 0.8016 mg),照“样品测定”项下方法分别制备供试品液,进样测定,计算马钱素的平均加样回收率为 96.52% ($RSD=3.38\%$)。

2.8 样品测定:取供试品 1 g(药材 0.5 g),精密称定,用 30% 甲醇 20 mL 分 3 次(每次 15 min)超声振荡提取,滤过,弃去滤渣,合并滤液,用 30% 甲醇定容至 25 mL(药材溶液含量太大须稀释 3~5 倍),微孔滤膜滤过,弃去初滤液约 3 mL,取滤液 5 mL 作为供试品液。取上液 5 μ L,注入 HPLC 仪,测定,计算,即得。结果见表 1。

表 1 供试品中马钱素的含量测定

样品	来源及批号	平均含量 (mg/g)	备注
山茱萸	浙江临安	8.71	生品(烘干)
山茱萸	浙江临安	5.12	炮制品
降糖清胶囊	本校制药厂 970910	0.73	炮制品
降糖清胶囊	本校制药厂 970911	0.78	炮制品
降糖清胶囊	本校制药厂 970912	0.72	炮制品

2.9 重现性试验:取供试品,分成 5 份,每份 1 g,精密称定,照“样品测定”项下方法分别制备供试品液,进样测定,计算,样品 5 次马钱素含量测定的 RSD 为 1.87%。

3 结论与讨论

3.1 从上述结果可以看出,山茱萸及其制剂中均含有一定的马钱素,生品的马钱素含量比炮制品的略高,提示炮制过程对马钱素含量有所影响;而降糖清胶囊处方中山茱萸用炮制品,因此,有必要加强对原料炮制质量的控制。

3.2 马钱素等环烯醚萜苷类化合物是山茱萸的主要成分,其具有增强机体免疫能力等药理作用^[5,6],对糖尿病的治疗是有益的,以其作为降糖清胶囊的含量测定指标具有一定

意义。

参考文献

1 黄泰康. 常用中药成分与药理手册. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 368
 2 中华人民共和国药典. 一部. 1995: 21

3 李克明, 等. 中国中药杂志, 1991, 19: 738
 4 原田正敏(日). 国外医学·植物药分册, 1991, 6(1): 20
 5 赵武述, 等. 中草药, 1990, 21: 17
 6 赵武述, 等. 中日友好医院学报, 1991, 5: 17, 139

(1999-04-09 收稿)

中药止痛胶囊中芍药苷的 HPLC 含量测定

天津计划生育研究所(300191) 邵长风* 陈 坚 杨吉田 张 颖

摘 要 用 HPLC 法, 超声波提取, 对中药止痛胶囊中主药白芍中芍药苷含量进行测定。其平均回收率为 100.72%, 相对标准偏差为 1.23%。结果表明: 用本法测定该止痛胶囊中芍药苷含量, 结果准确、灵敏、方法简便, 且有适用性。

关键词 HPLC 中药止痛胶囊 芍药苷

Determination of Paeoniflorin in Analgesic Zhitong Capsule by HPLC

Shao Changfeng, Chen Jian, Yang Jitian, *et al.* (Tianjin Municipal Research Institute for Family Planning, Tianjin 300191)

Abstract The determination of paeoniflorin in analgesic Zhitong Capsule by HPLC was reported. The sample was extracted by ultrasonography. Chromatographic conditions: Shimadzu LC-6; column size Shim-pack CLC-ODS 150 mm × 6 mm; detection wave length, 245 nm; flow rate 1 mL/min; mobile phase methanol-acetonitril-acetic acid-water (15 : 7.5 : 2 : 75.5). The average recovery was 100.72% and RSD 1.23%. The method is simple, sensitive and gave satisfactory results.

Key words HPLC paeoniflorin analgesic Zhitong Capsule

白芍系 *Paeonia lactiflora* Pall. 多年生草木植物, 有平肝止痛、养血调经之功, 可用于头痛眩晕、胁痛、腹痛、四肢挛痛等, 芍药中芍药苷显示了较强的生理活性。新研制的中药止痛胶囊是以白芍为主要药味及其它中草药经精制而成。芍药苷在止痛胶囊中含量多少对药效起着至关重要的作用。中药止痛胶囊中芍药苷含量测定方法尚未见报道。本文采用 HPLC 法, 用超声波萃取, 对该止痛胶囊中芍药苷含量进行测定^[1,2], 其平均回收率为 100.72%; 相对标准偏差为 1.23%。表明本法测定该止痛胶囊中芍药苷含量, 结果准确、灵敏、方法简便易行。

1 仪器、试剂

1.1 仪器: 日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪; 上海 CSF-3A 超声波发生器。

1.2 试剂: 甲醇、乙腈色谱纯, 醋酸分析纯, 超纯水; 对照品: 芍药苷购于中国药品生物制品检定所; 中药止痛胶囊样品: 由天津医药科学研究所提供。

2 色谱条件

色谱柱: 岛津 Shimpack CLC-ODS 柱 (15 cm × 6 mm), 流动相: 甲醇-乙腈-醋酸-水 = (15 : 7.5 : 2 : 75.5); 检测波长: 245 nm; 流速: 1.4 mL/min; 纸速: 1 mm/min。

实验表明, 在上述选择的色谱条件下中药止痛胶囊中, 其它组分对芍药苷组分峰无干扰, 分离好, 能够满足该止痛胶囊中芍药苷

* Address: Shao Changfeng, Tianjin Institute of Planning Parenthood Research, Tianjin