

Ara : Gal 为 1 : 1.50 : 1.19, PPM 中 Rha : Glu : Ara : Gal 为 0.05 : 2.54 : 1 : 1.67, PMA II 中 Glu : Gal 为 13.51 : 1, PMCN 中 Glu : Ara : Gal 为 1 : 0.49 : 7.22。可见,玉米花粉多糖主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖组成,并含有微量的鼠李糖、木糖,但各组分之间又有明显的差异。

3 讨论

将这一结果与 Sevag 法去蛋白的玉米花粉多糖中的单糖成分^[6]进行比较,发现不同的去蛋白方法对不同组分中的单糖组成有一定的影响,每种多糖中单糖都有一定的变化,但变化不大。如 PMA 用 Sevag 法去蛋白的多糖中单糖的峰面积比是 Glu : Ara : Gal 为 80.247 : 7.822 : 11.930;三氯醋酸法去蛋白的多糖中单糖的峰面积比是 Glu : Ara : Gal 为 67.346 : 10.330 : 22.324。

目前多糖中单糖组成的分析主要采用纸色谱、液相色谱、气相色谱,样品用量大,条件严格。本实验采用 HPCE 检测玉米花粉多糖中单糖组成,操作简

单,精度高,可以成为一种测定多糖中单糖组成的一种方法。

References:

- [1] Liu J X, Zhang Y L, Wang K F, et al. The activation effect of maize pollen polysaccharides on alveolar macrophages of rats [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 1999, 15 (6): 509-511.
- [2] Jin L Q, Liu J X, Wang K F, et al. The activation effect of maize pollen polysaccharides on human thoracic cavity macrophages [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2000, 16 (8): 726-729.
- [3] Geng Y, Wang K F, Zhang Y L. Immunological effects of polysaccharides from bee pollen of maize [J]. *Acta Zoo Sin* (动物学报), 2001, 47: 250-254.
- [4] Wang K F, Zou C Z, Lu M. Studies on the polysaccharides of maize pollen inhibiting effect to the proliferation of Sarcoma 180 cells [J]. *J Bee* (蜜蜂杂志), 2001 (2): 3-4.
- [5] Geng Y, Wang N B, Li H Y, et al. Composition analysis of polysaccharides from pollen by capillary electrophoresis [J]. *Shandong Sci* (山东科学), 2001, 14 (4): 10-13.
- [6] Wang J B, Lin L X, Geng Y, et al. Monosaccharides composition analysis of polysaccharides from maize pollen [J]. *J Shandong Normal Univ* (山东师范大学学报), 2004, 19 (3): 69-71.

HPLC 法测定返魂草及其注射剂中绿原酸

王继彦¹, 李丽静¹, 张莲珠²

(1. 长春中医学院药学院, 吉林 长春 130117; 2. 吉林天药科技股份有限公司, 吉林 长春 130012)

返魂草注射剂是以返魂草 *Senecio cannabifolius* Less 为原料提取制成的单味中药冻干粉针剂,具清热解毒、宣肺化痰等功效,本院内临床用于治疗肺热症(病毒和细菌性肺炎)和肺心症的治疗。笔者在新药开发研制过程中,从抗病毒活性较强的水溶性部分中分得已知活性成分绿原酸(chlorogenic acid)和咖啡酸(caffeic acid)。为了有效的控制原料及成品质量,本实验选定绿原酸为定量指标,建立了高效液相色谱测定方法。

1 仪器与材料

日本岛津 LC—10AT 高效液相色谱, SPD—10A UV-VIS 检测器, WDL—95 色谱工作站。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所,批号 0753-9607。返魂草药材购自吉林省敦化县,由长春中医学院药学院张

亚芝教授鉴定为菊科植物麻叶千里光(返魂草) *S. cannabifolius* Less. 的干燥地上部分。返魂草注射剂由长春中医学院附属医院新药研究中心提供。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件:色谱柱为 Shim-Pack CLC-ODS 分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.05%三氟乙酸(26 : 74);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:327 nm;进样量:20 μL。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取经减压干燥(50℃)至恒重的绿原酸对照品 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(临用现配,避光、低温)。

2.3 药材供试品溶液的制备:取返魂草药材粉末约 1 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加 50%甲醇 30 mL,于避光处放置 12 h,超声处理 30 min,滤

收稿日期:2004-11-26

基金项目:国家中医药管理局科研基金资助项目(97Z009)

作者简介:王继彦(1953—),男,长春市人,博士,副研究员,主要从事天然药物化学和中药新药开发研究。

Tel: (0431) 6172211 E-mail: jianwang126@126.com

至50 mL量瓶中,用50%甲醇洗涤并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 成品供试品溶液的制备:取成品装量差异项下的内容物,混合均匀,精密称取85 mg,置100 mL量瓶中,加50%甲醇适量使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5 线性关系的考察:精密称取经减压干燥(50℃)至恒重的绿原酸对照品,加50%甲醇制成含绿原酸0.2 mg/mL的对照品溶液。精密吸取对照品溶液0.5、1、2、4、5、6、8、10、15、20 μL按上述色谱条件测定峰面积。以进样量对相应峰面积进行线性回归,回归方程: $Y = 442\,700 X + 15\,422.786$, $r = 0.999\,5$ 。表明绿原酸在0.10~4.0 μg与峰面积具有良好的线性关系。

2.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别在0、2、4、6、8、10 h进样,测定峰面积。结果表明供试品溶液在10 h内稳定,绿原酸峰面积RSD为1.96% ($n=6$)。

2.7 精密度试验:同一供试品溶液,连续进样6次,测定,结果绿原酸峰面积RSD为0.84% ($n=6$)。

2.8 重现性试验:取同一批样品6份,制备供试品溶液,依上述方法测定,结果绿原酸质量分数为185.31 mg/g, RSD为1.11%。

2.9 回收率试验:采用加样回收法。精密称取批号为980310的样品91.00 mg,5份,分别加50%甲醇定容于50 mL量瓶中。各精密量取5 mL,分别精密添加适量的绿原酸对照品,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样,测定峰面积,计算回收率。结果绿原酸平均回收率为100.6%, RSD为2.4% ($n=6$)。

2.10 样品测定:取返魂草药材(5批)及返魂草注射剂成品(6批),分别制备供试品溶液,按上述色谱条件进行分析,根据外标法计算绿原酸的质量分数,结果见表1,色谱图见图1。

3 讨论

3.1 检测波长的选择:取绿原酸对照品适量,加甲

表1 返魂草药材及其注射剂中绿原酸的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Chlorogenic acid in *S. cannabinifolius* and Fanhuncao Injection ($n=3$)

药材批次	绿原酸/(mg·g ⁻¹)	成品批号	绿原酸/(mg·g ⁻¹)
1	0.75	980310	183.0
2	0.65	980325	181.0
3	0.72	980410	179.0
4	0.68	980505	158.0
5	0.51	980520	208.0
		980602	193.0

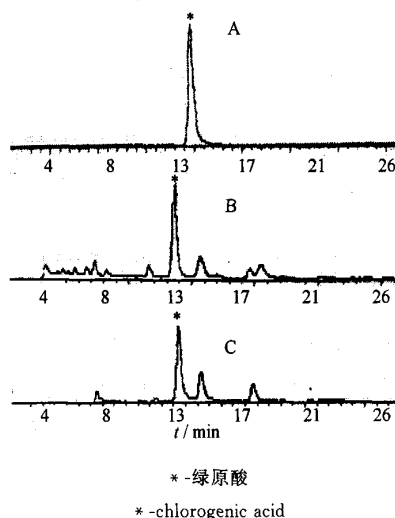


图1 绿原酸对照品(A)、返魂草药材(B)和返魂草注射剂(C)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of chlorogenic acid reference substance (A), *S. cannabinifolius* (B), and Fanhuncao Injection (C)

醇制成对照品溶液,进行光谱扫描,结果显示,绿原酸在327 nm波长处有最大吸收,故选定此波长作为测定波长。

3.2 流动相的选择:曾以甲醇-水-冰醋酸(15:83:2)、甲醇-水(0.05%三氟乙酸)(28:72)进行试验,但制剂中绿原酸的分离状态不佳。

3.3 提取溶剂的选择:样品通过用水、乙醇、甲醇、50%甲醇提取,进样比较,50%甲醇提取效果最佳。

• 项目转让 •

复方灯盏花胶囊

新药类别:中药新药六类

处方组成:由灯盏细辛、丹参等药味组成

功能主治:活血化痰,益气通脉。用于脑血管意外后遗症:半身不遂,言语不利,口眼歪斜,或有气短乏力等。

项目特点:复方灯盏花胶囊是根据祖国医学有关脑络痹阻型中风的中医理论,由中医专家临床实践并经现代药理学筛选而得的临床经验方。工艺稳定,服用剂量小,质量可控。

研究进度:现已完成注册临床补充试验研究,待批临床。

联系电话:022-27481071 27382519

联系人:孙女士

万方数据