

## · 药物分析与检验 ·

### HPLC 法测定冬凌草萜含片中冬凌草甲素的含量\*

冀春茹 冯卫生 胡润淮 苏永林<sup>1</sup> 夏忠庭<sup>1</sup> (郑州 450003 河南中医学院;<sup>1</sup> 本院中药系毕业实习生)

**摘要** 目的:对冬凌草萜含片中的冬凌草甲素进行含量测定。方法:采用 HPLC 法,以 C<sub>18</sub>-ODS 为色谱柱,甲醇-水(55:45)为流动相,检测波长为 242nm。结果:回收率为 98.23%,RSD 为 2.12%。结论:该方法简便、可靠,适合冬凌草及其制剂的质量控制。

**关键词** 高效液相色谱法;冬凌草;冬凌草甲素;冬凌草萜含片

### Quantitative determination of oridonin in the radosia rubescens terpenoids buccal tablets by HPLC

Ji Chunru(Ji CR),Feng Weisheng(Feng WS),Hu Runhuai(Hu RH),*et al*(Henan College of Traditional Chinese Medicine,Zhengzhou 450003)

**ABSTRACT OBJECTIVE:**To determination the content of oridonin in the radosia rubescens terpenoids buccal tablets.  
**METHODS:**HPLC method was selected to determine the content.The separation was performed on an analytical C<sub>18</sub>-ODS column.The mobile phase was methanol-water(55:45),The UV detector was set at 242nm.  
**RESULTS:**The average recovery was 98.23% with RSD 2.12%.  
**CONCLUSION:**This method was proved to be simple and reliable,and can be used for the quality control of radosia rubescens and its preparation.

**KEY WORDS** HPLC,radosia rubescens,oridonin,radosia rubescens terpenoids buccal tablets

冬凌草[*Radosia rubescens*(Hems1.)Hara]为唇形科香茶菜属植物,广泛分布于我国黄河流域及其以南广大地区。冬凌草中的主要有效成分为二萜及三萜类。二萜中的主要有效成分为冬凌草甲素和冬凌草乙素,三萜中的主要有效成分为熊果酸和齐墩果酸。药理实验证明<sup>[1-3]</sup>,冬凌草甲素对体外培养的 HeLa 细胞、人体食管癌 109 细胞及肝癌 BEL-7402 细胞有明显的细胞毒作用,对多种移植性动物肿瘤有明显的抗肿瘤作用。冬凌草乙素也具有明显的抗肿瘤活性,它对体外培养的艾氏腹水癌细胞具有明显的细胞毒作用。齐墩果酸具有保肝、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,近年又证明有一定的抗癌活性。熊果酸不仅对多种致癌、促癌物有抵抗作用,而且对多种恶性肿瘤细胞有抑制生长作用,同时它还具有抗突变、抗氧化和诱导癌细胞分化及增强细胞免疫功能等作用。

冬凌草萜含片为我院研制的一种抗食道癌二类新药,它是从济源盛产的冬凌草叶为原料,采用优选出的

新的提取分离技术将冬凌草叶中的抗癌活性成分(主要为冬凌草甲素、冬凌草乙素、熊果酸和齐墩果酸)提取分离出来,然后加工制成萜含片。为了控制该制剂的质量,我们采用 HPLC 法对冬凌草萜含片中的主要有效成分冬凌草甲素进行了含量测定。

#### 1 仪器、样品及试剂

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);SPD-10A 型紫外-可见检测器,C-R<sub>7</sub> plus 计算机控制及处理系统。

冬凌草甲素对照品(中国科学院昆明植物研究所),冬凌草叶于 1997 年 9 月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。

甲醇为优级纯,蒸馏水为双蒸水。

#### 2 实验方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 C<sub>18</sub>-ODS 柱(日本岛津);流动相为甲醇-水(55:45);流速:0.8 ml/min;检测波

\* 国家中医药管理局科技攻关项目第 950989 号

长:  $\lambda = 242\text{nm}$ ; 温度: 室温; 记录纸速:  $0.5\text{cm/min}$ ; 灵敏度:  $0.005\text{AUFS}$ 。

2.2 标准溶液的配制 精密称取干燥恒重的冬凌草甲素对照品  $1.88\text{mg}$ , 置  $25\text{ml}$  量瓶中, 用甲醇溶解, 定容至刻度, 为  $0.0752\text{mg/ml}$ 。

2.3 样品溶液的制备 精密称取干燥恒重的冬凌草萜含片  $20$  片 ( $12.732\text{g}$ ), 研细后用乙醚冷浸  $6$  次, 每次用乙醚  $30\text{ml}$  浸提  $1\text{h}$ , 过滤, 合并滤液后将溶剂挥干, 残渣用甲醇溶解, 定容至  $50\text{ml}$  量瓶中, 测定前吸取  $2\text{ml}$  上述溶液用甲醇稀释定容至  $25\text{ml}$  量瓶中。

2.4 标准曲线的绘制 取上述对照品溶液分别以  $2.0$ ,  $4.0$ ,  $6.0$ ,  $8.0$  和  $10.0\mu\text{l}$  进样分析, 以对照品进样的微升数为纵坐标, 以峰面积为横坐标作图, 得一通过原点的直线, 求算回归方程。结果表明, 当冬凌草甲素浓度在  $0.1504 \sim 0.7520\text{mg/ml}$  之间时, 呈良好的线性关系, 回归方程为  $Y = 4161888.3X + 35264.6$ ,  $r = 0.9991$ , 结果见表 1。

表 1 冬凌草甲素进样量与峰面积值的关系

编号	对照品进样量/ $\mu\text{g}$	测得峰面积值
1	0.1504	622971
2	0.3008	1294432
3	0.4512	1971248
4	0.6016	2553930
5	0.7520	3122962

2.5 精密度试验 同一样品溶液同时进样  $6$  次, 分别测定峰面积, 平均值为  $1886584$ ,  $RSD$  为  $2.17\%$ 。

2.6 样品的含量测定 吸取样品溶液 (每次进样  $5\mu\text{l}$ ) 进行测定, 用外标一点法计算出样品中冬凌草甲素的含量, 结果见表 2, 图 1。

表 2 样品中冬凌草甲素含量测定结果

编号	冬凌草甲素含量/ $\%$	平均含量/ $\%$	$RSD/\%$
1	1.145		
2	1.234	1.189	3.74
3	1.189		

2.7 加样回收率试验 准确称取已测知含量的样品  $5$  份, 加入一定量的对照品, 按样品溶液制备方法进行提取处理及测定, 计算回收率, 见表 3。平均回收率为  $98.23\%$  ( $n = 5$ ),  $RSD$  为  $2.12\%$ 。

### 3 讨论

3.1 样品溶液的制备我们采用乙醚少量多次冷浸, 这是考虑到冬凌草萜含片中的主要有效成分冬凌草甲素在乙醚中有很好的溶解度, 再者以乙醚提取提出的杂

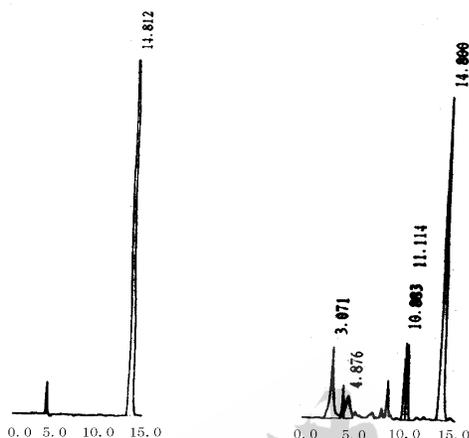


图 1 HPLC 图谱

1 - 对照品; 2 - 样品

表 3 回收率测定结果

	样品已知含 量/ $\text{mg}$	加入对照品 量/ $\text{mg}$	测得量 / $\text{mg}$	回收率 / $\%$	平均回收 率/ $\%$	$RSD$ / $\%$
1	2.54	2.45	4.95	98.37		
2	2.58	2.45	4.97	97.55		
3	2.56	2.45	4.96	97.96	98.23	2.12
4	2.52	2.45	5.01	101.63		
5	2.59	2.45	4.94	95.92		

质少, 色浅, 冬凌草甲素的色谱峰附近没有干扰。作者曾用甲醇作溶剂对样品进行提取制备, 但由于提出的杂质较多, 冬凌草甲素的色谱峰附近有杂质干扰, 峰不理想。

3.2 从精密度试验及加样回收试验表明本法准确, 可用于检验、评价冬凌草及其产品的质量及生产工艺控制。

3.3 本法简便易行, 适用范围广, 与薄层扫描法相比, 结果更为准确可靠, 完全适用于冬凌草制剂 (包括单味、复方) 批量产品的分析检定。

### 参考文献

- 刘晨江, 赵志鸿. 冬凌草的研究进展. 中国药学杂志, 1998, 33(10): 577.
- 孙燕, 袁瑞荣, 吴西居, 等. 齐墩果酸的促免疫作用. 中国临床药理学杂志, 1988, 4(1): 26.
- 黄镜, 孙燕. 熊果酸的抗肿瘤活性. 中国中药杂志, 1997, 6(2): 101.

收稿日期: 1998 - 08 - 24