

CHROM. 9895

Note

Hochleistungsflüssigchromatographische Trennung von Silymarinen und deren Bestimmung im Rohextrakt von *Silybum marianum* Gaertn.

G. TITTEL und H. WAGNER

Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, Karlstrasse 29, D-8000 München 2 (B.R.D.)

(Eingegangen am 29. Dezember 1976)

Silybin, Silydianin und Silychristin, die genuinen Flavonolignane der Früchte von *Silybum marianum* Gaertn. haben in der Leberschutztherapie erhebliche Bedeutung erlangt¹. Die bisherigen Methoden zur qualitativen und quantitativen Bestimmung beruhen im wesentlichen auf der dünnschichtchromatographischen Auftrennung und anschließenden spektrophotometrischen Bestimmung nach Umsetzung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin² oder direkter Fluorometrie³.

Durch Einsatz der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) können die miteinander isomeren Silymarine in kürzester Zeit ohne Derivatisierung direkt aus dem Rohextrakt getrennt und quantitativ bestimmt werden. Zur Quantifizierung wird Naphthol-1 als innerer Standard vorgeschlagen. Von Fisher und Wheaton⁴ sowie von Wulf und Nagel⁵ sind kürzlich ebenfalls erste Versuche zur Trennung von bekannten Flavonoiden mit diesem Verfahren unternommen worden.

EXPERIMENTELLES

Die folgende Geräte wurden verwendet: Pumpe, Waters Assoc. M 6000 A; Injektor, Waters Assoc. U6K; Detektor, Altex 151, 280 nm UV; Säulen: Nucleosil® 10 C18, 25 cm × 4 mm I.D., Stahl und μ Bondapak® C18, 30 cm × 4 mm I.D., Stahl. Als Eluiermittel wurde Wasser-Methanol (60:40) mit 5% Eisessig-Zusatz verwendet; Durchflussgeschwindigkeit, 2.0 ml/min; Temperatur, 23°.

Der untersuchte Extrakt war ein mit Silymarinen stark angereicherter Extrakt der Fa. Madaus (Köln, B.R.D.; Charge Nr. 52754); Reinsubstanzen waren Silybin, Silychristin, Silydianin, Taxifolin; innerer Standard, Naphthol-1 (Merck, 6223 p.a.).

ERGEBNISSE

Die Auftrennung der Reinsubstanzen wurde bei einem Durchfluss von 2.0 ml/min auf reversed-phase Systemen erreicht (Fig. 1). Unter Verwendung der μ Bondapak C18 Säule erfolgt für Silybin und den inneren Standard Naphthol-1 Grundlinientrennung, sodass Silybin sowohl als Reinsubstanz als auch im Extrakt direkt quantitativ bestimmt werden kann. Silychristin und Silydianin trennen sich nicht bis zur Grundlinie und können auf diese Weise nicht einzeln quantitativ bestimmt wer-

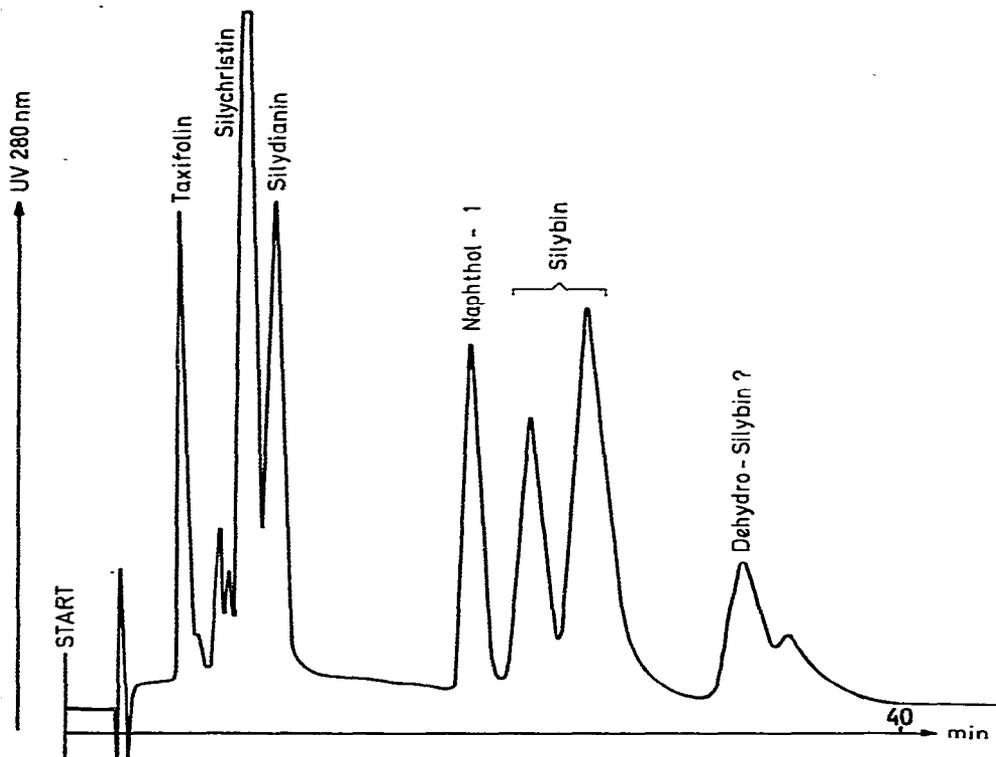


Fig. 1. HPLC-Trennung des Silymarin-Extraktes. Säule, μ Bondapak C_{18} ; Durchflussrate, 2.0 ml/min. Konzentrationen: Silymarin-Extrakt, 22.3 mg; Naphthol-1, 2.2 mg; gelöst in 100 ml Methanol. Einspritzmenge, 4 μ l.

den. Sie lassen sich aber im Rahmen einer Gesamtsilymarin-Bestimmung durch Integration über die Gesamtfläche erfassen.

Die Elutionsreihenfolge lautet: Taxifolin, Silychristin, Silydianin, Naphthol-1 und Silybin. Silybin spaltet sich in zwei nahezu gleich grosse Peaks auf. Diese Aufspaltung wurde sowohl bei der Chromatographie des Extraktes als auch bei der Elution der Reinsubstanz beobachtet. Die Klärung dieses Phänomens ist im Gange.

Der Ballaststoffe enthaltende Extrakt kann ohne Basislinienveränderung direkt eingespritzt werden. Unter Berücksichtigung eines Korrekturfaktors ist eine Vorreinigung über Sephadex[®] LH-20 nur zur Schonung der Trennsäule erforderlich.

Eine ausführliche Mitteilung über die quantitative Bestimmung der Silymarine ist in Vorbereitung.

DANK

Unser Dank gilt Herrn Weiss, Firma Waters, München, für technologische Hilfestellung bei der qualitativen Trennung.

LITERATUR

- 1 R. Braatz und C. C. Schneider (Herausgeber), *Symp. Pharmacodynamics of Silymarin, Köln, 29-30 November 1974*, Dr. Madaus und Co., Köln, 1974.
- 2 H. Wagner, P. Diesel und M. Seitz, *Arzneim.-Forsch.*, 24 (1974) 466.
- 3 P. Diesel, *Dissertation*, Ludwig-Maximilians Universität zu München, München, 1974.
- 4 J. F. Fisher und T. A. Wheaton, *J. Agr. Food Chem.*, 24 (1976) 898.
- 5 L. W. Wulf und C. W. Nagel, *J. Chromatogr.*, 116 (1976) 281.