

赶山鞭中金丝桃苷的 HPLC 测定

叶绿萍¹, 刘小意¹, 陆海鹏², 廖厚知³, 韦作干³

(1. 广西中医学院一附院, 南宁 530023; 2. 广西民族医院, 南宁 530001;
3. 广西汇科药物研究所, 南宁 530007)

[摘要] 目的: 建立赶山鞭中金丝桃苷的含量测定方法。方法: 采用 VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14:86) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 360 nm 为 HPLC 检测条件测量 7 批赶山鞭含量。结果: 赶山鞭中的金丝桃苷含量测定方法在 0.099 8 ~ 0.998 0 时进样量与峰面积的线性关系良好 ($r = 0.999 8$), 平均回收率为 100.11%, RSD 1.20%。结论: 所建立的方法准确、灵敏、重复性好, 可用于赶山鞭的质量控制。

[关键词] 赶山鞭; 金丝桃苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2011)07-0078-03

Determination Content of Hyperin in *Hypericum attenuatum Choisy*

YE Lv-ping¹, LIU Xiao-yi¹, LU Hai-peng², LIAO Hou-zhi³, WEI Zuo-gan³

(1. The First Affiliated Hospital to Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning 530023, China;
2. Guangxi National Hospital, Nanning 530001, China;
3. Guangxi Huike Institute of Materia Medica, Nanning 530007, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination method of hyperin content in *Hypericum attenuatum Choisy*. **Method:** VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column was used, the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid water (16:84); with the flow rate as 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was at 360 nm. **Result:** The linear relation of hyperin was good in the range from 0.099 8 to 0.998 0 μg. The average recovery was 100.11%, RSD 1.20%. **Conclusion:** The method established is accurate, sensitive and good in reproducibility. It can be applied to the quality control of *H. attenuatum*

[Key words] *Hypericum attenuatum Choisy*; hyperin; HPLC

赶山鞭 *Hypericum attenuatum Choisy* 是藤黄科金丝桃属植物, 为西南地区民间常用的中草药^[1], 性味苦、平, 有止血、镇痛、通乳的功效, 主治咯血、吐血、子宫出血、风湿关节炎、神经痛、跌打损伤、乳汁缺乏、乳腺炎、创伤出血、疔疮肿毒^[2]。金丝桃苷 (hyperin) 为赶山鞭的有效成分之一, 本研究建立了金丝桃苷的含量测定方法, 旨在为赶山鞭的质量标准制定提供实验依据。

1 材料

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪 (包括 LC-10AtvP 泵, Rheodyne7725i 进样器, LC-10Avp 紫外检测器); 威玛龙色谱工作站 (南宁威玛龙公司); 岛津 UV-2450 紫外分光光度仪, 梅特勒-托利多 AB265-S 型分析天平; SYZ-A 石英亚沸高纯水蒸馏器 (江苏信达仪器厂)。

金丝桃苷 (中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 批号 111521-200303), 赶山鞭由广西汇科药物研究所工程师廖厚知采集并鉴定, 采集地点分别为广西乐业 (H1)、龙胜 (H2)、南丹 (H3)、融水 (H4)、凌云 (H5)、那坡 (H6)、靖西 (H7)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 岛津 VP-ODS C₁₈ 柱 (4.6 mm × 150

[收稿日期] 20101118 (007)

[第一作者] 叶绿萍, 硕士, 主管药师, 执业药师, 主要从事药事管理及药物分析, 0771-5840015, 0771-2661131, E-mail: yelvping.nanning@gmail.com

mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14:86), 检测波长为 360 nm^[3], 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温室温。理论板数按金丝桃苷不低于 3 000, 此条件下金丝桃苷与其他成分分离度不低于 1.5。

2.2 溶液的配置

2.2.1 对照品溶液的配置 精密称取金丝桃苷对照品适量, 加甲醇配制成 30 mg·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.2.2 样品溶液的制备 取本品粉末 (过三号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 60% 乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 测定方法 分别精密吸取对照品溶液、样品溶液各 20 μL , 注入高效液相色谱仪, 按确定的色谱条件测定, 金丝桃苷与其他成分分离良好, 见图 1。

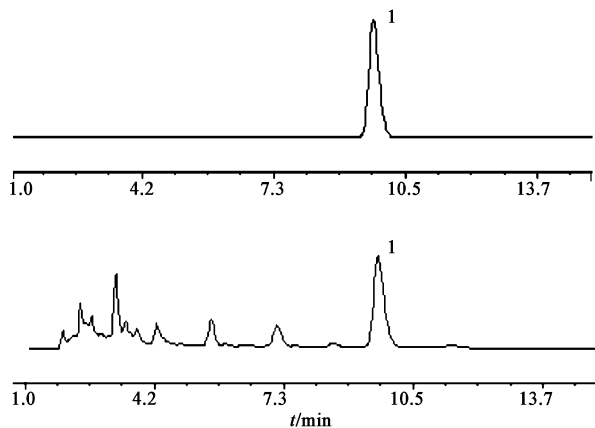


图 1 赶山鞭液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 金丝桃苷

2.4 线性关系的考察 精密称取金丝桃苷对照品 9.98 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。按上述色谱条件, 分别进样 20 μL , 测定, 结果以进样量为横坐标, 以色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = -13\,334 + 4\,698\,515.6X$ ($r = 0.999\,8$), 可见, 金丝桃苷进样量在 0.099 8 ~ 0.998 0 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取同一样品溶液 20 μL , 按上述色谱条件, 连续进样 6 次, 测定色谱峰面积, 计算 RSD 0.85%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一批样品溶液 20 μL , 按样品溶液制备方法制备样品溶液, 在 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 h 进行分析, 测定色谱峰面积, 计算 RSD

0.82%, 表明样品溶液制备后 72 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份, 按样品溶液制备方法制备样品溶液, 测定含量进行分析, 结果平均质量分数为 1.275 2%, RSD 2.12%, 表明本测定方法重复性好。

2.8 加样回收率试验 取已知准确含量 (1.275 2 mg·g⁻¹) 的样品 6 份, 每份取 0.25 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入 3 mL 金丝桃苷对照品溶液 (0.099 8 g·L⁻¹), 挥去甲醇, 按样品溶液制备方法制备, 分别注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件下测定金丝桃苷峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 金丝桃苷回收率试验

取样量 /g	样品中 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.251 7	0.321 0	0.299 4	0.614 8	0.293 8	98.14		
0.249 3	0.317 9	0.299 4	0.621 6	0.303 7	101.43		
0.253 3	0.323 0	0.299 4	0.620 9	0.297 9	99.50	100.11	1.20
0.250 8	0.319 8	0.299 4	0.618 7	0.298 9	99.83		
0.249 6	0.318 3	0.299 4	0.620 0	0.301 7	100.77		
0.251 5	0.320 7	0.299 8	0.623 4	0.302 7	100.96		

2.9 样品的含量测定 取赶山鞭 7 批, 按上述方法测定, 7 批样品含量分别为 0.127%, 0.232%, 0.187%, 0.106%, 0.078, 0.169, 0.126%。表明不同产地的赶山鞭中金丝桃苷的含量在 0.078 ~ 0.232 之间, 平均含量为 0.146 4。

3 讨论

在药材的提取上曾采用甲醇超声提取、乙醇回流及超声提取、40% 乙醇回流提取、80% 乙醇回流提取, 结果甲醇提取及乙醇提取杂质峰多, 难以分离; 40% 乙醇提取不完全, 80% 乙醇回流较 60% 乙醇回流峰杂质多, 故采用 60% 乙醇回流提取。在流动相的选择上探讨过乙腈-0.1% 磷酸水溶液^[3] (16:82), 结果分离度未能达到要求, 换成本方法后, 分离度大于 1.5 以上达到实验要求。

[参考文献]

- [1] 张俊松, 王晓利, 罗谦, 等. HPLC 测定贯叶连翘及提取物中伪金丝桃素和金丝桃苷的含量[J]. 中成药, 2006, 28(5): 709.
- [2] 胡君萍, 杨建华. 反相高效液相色谱法同时测定新疆贯叶连翘中芦丁和金丝桃苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(5): 363.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2005: 159.

[责任编辑 蔡仲德]