

高效液相色谱法测定菟丝子中金丝桃苷的含量

聂新华*

(深圳市第二人民医院, 广东 深圳 518035)

[摘要] 目的: 建立菟丝子中金丝桃苷的含量测定方法。方法: 用70%乙醇溶液提取菟丝子细粉。采用Lichrospher C₁₈柱(5 μ m, 250mm \times 4.6mm i. d), 流动相: 甲醇-0.1%磷酸水溶液(45:55)。流速: 1.0mL/min。柱温: 25 $^{\circ}$ C。检测波长: 355nm。结果: 在5.02~100.4 μ g范围内有良好的线性关系, 线性相关系数为0.9999。结论: 方法准确、简便、灵敏, 重现性好。

[关键词] 菟丝子; 金丝桃苷; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)09-0013-02

菟丝子为旋花科植物菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. 的干燥成熟种子, 为常用中药, 味甘, 性温, 具有滋补肝肾、固精缩尿、安胎、明目、止泻等作用, 为平补阴阳之品, 温而不燥, 补而不腻; 主治阳痿遗精、尿有余沥、肾虚胎漏、胎动不安。药理学实验证明其中黄酮类化合物是其有效成分^[1]。目前从菟丝子中提取并鉴定出结构的黄酮类成分有金丝桃苷、槲皮素、紫云英苷、山奈酚等^[2-4]。近年来有关于菟丝子中芦丁、槲皮素、山奈酚等黄酮类成分的含量测定的报道^[6-9]。本实验采用HPLC法对菟丝子中黄酮类化合物金丝桃苷进行了含量测定。

1 实验材料及仪器设备

1.1 仪器 Waters 2690@996 高效液相色谱仪。

1.2 药品及试剂 甲醇: 色谱纯, Fisher。磷酸: 分析纯, 北京化工厂。水为去离子水。无水乙醇: 分析纯, 北京化工厂。金丝桃苷对照品: 自制, 纯度达98%以上。试验样品由作者鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher C₁₈柱(5 μ m, 250mm \times 4.6mm i. d), 流动相: 甲醇-0.1%磷酸水溶液(45:55)。流速: 1.0mL/min。柱温: 25 $^{\circ}$ C。检测波长: 355nm。进样10 μ L。

2.2 对照品溶液的配制 精密称取金丝桃苷对照品10mg置于10mL的量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品贮备液, 备用。精确量取上述金

丝桃苷溶液2mL于10mL量瓶中, 加甲醇刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(0.2mg/mL)。

2.3 提取方法 文献[9]报道用甲醇提取, 本文比较了甲醇、95%乙醇、80%乙醇、70%乙醇、60%乙醇等溶剂的提取结果, 确定70%乙醇对金丝桃苷的提取率最高。以70%乙醇作为提取溶剂, 加热回流提取, 取1, 2, 3, 4h为时间点, 实验结果表明加热回流提取2h与3h、4h的结果基本一致, 说明加热回流提取2h将菟丝子中的金丝桃苷提取完全。

2.4 供试品溶液制备 取菟丝子细粉0.5g, 精密称定, 置150mL三角瓶中, 精密加入70%乙醇50mL, 称重, 加热回流提取2h, 冷却至室温, 补重, 摇匀, 过滤, 续滤液作为供试品溶液。

2.5 标准曲线 精确量取金丝桃苷对照品贮备液0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1mL, 分别置于10mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 分别取10 μ L注入高效液相色谱仪, 记录峰面积。以对照品溶液浓度为横坐标, 对照品峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 标准线性回归方程为 $Y = 868.32X + 1.209$, 相关系数 $r = 0.9999$, 线性范围为 5.02~100.4 μ g \cdot mL⁻¹。

2.6 重复性试验 按供试品溶液的制备, 平行试验5份进行测定, 结果金丝桃苷平均含量0.37%, RSD为1.9%, 方法有良好的重复性。

2.7 精密度试验 取供试品溶液, 重复进样6次, 金丝桃苷平均含量0.36%, 相对标准偏差(RSD)为0.56%。

2.8 稳定性试验 取供试品溶液, 分别在0.2、4、6、8、10、12、24h进样, 测得峰面积。结果的RSD为1.0%, 表明菟丝子供试品在测定时间24h内保持稳

[收稿日期] 2005-12-12

[通讯作者] * 聂新华, Tel: (0755) 25173309; E-mail: niexh0755

@126.com

定。

2.9 回收率 精密称取已测定含量的菟丝子粉 9 份, 各 0.5g, 分别精密加入金丝桃苷对照品贮备液 1.2、1.57、1.7mL 按“2.4 供试品溶液制备”项下制备, 取 10 μ L 注入高效液相色谱仪, 依色谱条件, 进行测定, 结果见表 1, 平均回收率为 99.7% ($RSD = 2.02\%$)。

表 1 金丝桃苷回收率测定 (%)

称量 (g)	金丝桃苷含量 (mg)	金丝桃苷加入量 (mg)	金丝桃苷检出量 (mg)	回收率 (%)
0.5021	1.86	1.20	3.08	101.7
0.5047	1.87	1.20	3.07	100.0
0.5001	1.85	1.20	3.02	97.5
0.5021	1.86	1.51	3.35	98.7
0.5010	1.85	1.51	3.31	96.7
0.5031	1.86	1.51	3.40	102.0
0.5027	1.86	1.71	3.54	98.2
0.5016	1.86	1.71	3.60	101.8
0.5008	1.85	1.71	3.58	101.2

2.10 含量测定 不同产地市售菟丝子, 粉碎。取细粉 0.5g, 精密称定, 按“供试品溶液制备”项下操作。取 10 μ L 注入高效液相色谱仪, 依色谱条件测定, 记录峰面积, 按外标法计算金丝桃苷的含量, 结果见表 2。对照品及供试品的色谱图见图 1、图 2。

表 2 不同产地金丝桃苷的含量 %

样品来源	含量 %
北京	0.37
深圳	0.10
广州	0.21
青岛	0.16
安国	0.29
兰州	0.07

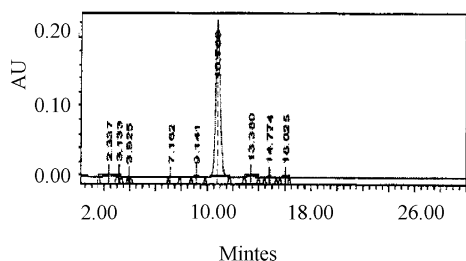


图 1 金丝桃苷的色谱图

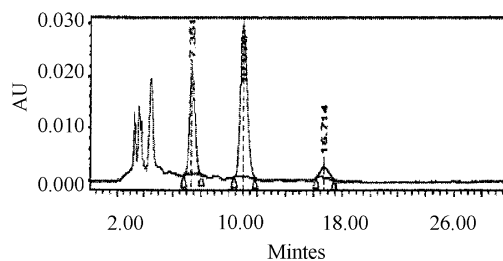


图 2 菟丝子的色谱图

3 小结

菟丝子的黄酮类成分以槲皮素及其苷为主, 其中金丝桃苷的含量较高, 可以作为菟丝子的指标成分, 本法操作简便, 干扰小, 稳定, 可作为对菟丝子的含量测定的方法。

[参考文献]

- [1] 中国医学科学院药物所. 中药志(III) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 583.
- [2] 金晓, 李家实, 阎文玫. 菟丝子黄酮类成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 1992, 17(5): 293.
- [3] 王展, 何直舜. 菟丝子化学成分的研究 [J]. 中草药, 1998, 29(9): 557.
- [4] 叶敏, 阎玉凝, 乔梁, 等. 中药菟丝子化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(2): 115.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 217.
- [6] 曾诚, 罗颂平, 宓穗卿, 等. 菟丝子活性成分槲皮素含量测定中 HPLC 方法的建立 [J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(8): 701.
- [7] 阎超, 辛力, 艾力·肉孜, 等. 新疆和田菟丝子中槲皮素和山萘酚的含量测定 [J]. 新疆医科大学学报, 2003, 26(3): 261.
- [8] 杨水新, 蒋国强, 朱丽华. 高效液相色谱法测定菟丝子中芦丁、槲皮素及山萘酚的含量 [J]. 浙江中医学院学报, 2001, 25(4): 65.
- [9] 郑一敏, 胥秀英, 杨艳红, 等. HPLC 测定菟丝子中金丝桃苷与槲皮苷的含量 [J]. 华西药学杂志. 2005, 20(3): 261.