

几种滇产金丝桃属植物金丝桃素的含量测定

赵晶¹, 贺建昌¹, 高玮¹, 代波², 吴孟岚^{2*}

(1. 成都军区昆明总医院, 云南 昆明 650032 2. 贵阳医学院 药理学系, 贵州 贵阳 550000)

金丝桃属 *Hypericum* L. 植物的主要成分金丝桃素具有抗病毒(包括 HIV)、抗肿瘤和抗抑郁作用^[1]。临床除用于抗抑郁、调节中枢神经外, 还是一种有前途的内源性光敏剂。可用于肿瘤的光化学诊断与治疗, 并具有显著的抑制人体免疫缺陷病毒(HIV)及其他一些反转录病毒作用, 国外有研究用于爱滋病的治疗^[2]。本实验采用 HPLC 对云南的 5 种金丝桃属植物中的金丝桃素进行含量测定, 为云南金丝桃属植物新资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器: Beckman System Gold 高效液相色谱仪、166 紫外检测仪(System Gold Programmable Detector Module 166)、20 μ L 进样器(System Organizer)、二元梯度泵(Beckman 110B Solvent Delivery Module)。

1.2 原植物样品: 遍地金 *H. wightianum* Wall. ex Wight et Arn.、地耳草 *H. japonicum* Thunb. ex Murray、扬子小连翘 *H. faberi* Keller、云南小连翘 *H. petiolulatum* subsp. *yunnanense* (Franch.) N. Robson、短柄小连翘 *H. petiolulatum* Hook. f. et Thoms. ex Dyer 采自云南东部和西部山区。

1.3 试剂: 金丝桃素(购自德国 Sigma 公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 乙醇、乙酸乙酯、石油醚、乙酸为分析纯。

1.4 标准液配制: 将对照品金丝桃素 1 mg 置 50 mL 容量瓶中, 定容, 配成金丝桃素为 0.01 mg/mL 的贮备液备用。

1.5 样品液制备: 遍地金、地耳草、扬子小连翘、云南小连翘、短柄小连翘全草干燥粉碎, 分别称取 200 g, 用 10 倍量 70% 乙醇渗漉提取。提取液浓缩至小体积, 与硅胶粉混合、阴干、研细、过筛(140 目)制得提取物的干燥硅胶粉, 每克硅胶粉分别相当于干燥原植物遍地金 1.979 g, 扬子小连翘 2.861 g, 云南小连翘 3.099 g, 短柄小连翘 2.516 g, 地耳草 3.227 g。分别称取以上含植物提取物的硅胶粉 10 g, 均匀、紧密地装在已填有 50 g 硅胶 H(200~260 目)的减压柱内。用石油醚-乙酸乙酯(3:1)200 mL 将其大部分杂质洗出,

再用乙酸乙酯约 600 mL 将其含金丝桃素的活性部位洗下, 收集乙酸乙酯洗脱液, 回收溶剂, 用甲醇溶解, 溶液转入 100 mL 容量瓶中定容备用。

1.6 色谱条件: 色谱柱为 HYPERSIL ODS (250 mm $\times$ 4.6 mm, 10 μ m); 流动相: 甲醇-乙腈-乙酸=50:50:0.5; 流速: 0.6 mL/min; 检测波长: 590 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

1.7 标准曲线 精密吸取 0.0048 mg/mL 金丝桃素标准贮备液 0.00, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。各取 20 μ L 进样, 按 1.6 色谱条件测定, 得回归方程 $Y = 0.59075X + 0.235653$, $r = 0.9997$ 。由此可知在 0.00048~0.00384 mg/mL 具有良好的线性关系。

1.8 精密度与重复性实验: 准确吸取 20 μ L 标准溶液(0.4 μ g/mL), 于上述色谱条件下连续进样 5 次, 测得峰面积的 RSD 为 1.8%。取遍地金植物粉末 0.5 g, 按样品制备方法制备 5 份样品溶液, 按 2.1 测定金丝桃素含量, RSD 为 2.4%。

1.9 回收率实验: 精密称取遍地金样品 0.5 g, 加入 10 μ g/mL 金丝桃素对照品溶液 1.0 mL, 其余操作同样品制备及测定, 测得金丝桃素平均回收率 95.8%, RSD 为 2.7% ($n = 5$)。

1.10 稳定性试验: 依法制备供试样品溶液, 连续取样 5 份, 间隔 1.5 h 进样, 测定样品峰面积积分值分别为 0.1446, 0.1439, 0.1508, 0.1444, RSD 为 2.00% ($n = 5$)。表明样品溶液至少在 6 h 内稳定。

2 结果

2.1 将供试样品液稀释($1 \rightarrow 10$), 以微孔滤膜过滤后于 590 nm 处进行 HPLC 分析, 所要测定的金丝桃素与其他杂质分离均较好, 无干扰。见图 I-II~VI。

2.2 金丝桃素含量测定: 结果如表 1。

3 讨论

3.1 流动相选择: 为了得到较好的分离效果, 本实验采用甲醇、乙腈、乙酸的混合液作为流动相, 并对

* 收稿日期: 2002-07-23

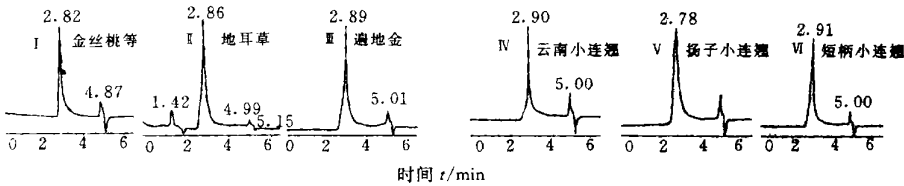
基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(1998C108M)

作者简介: 赵晶(1952-), 女, 云南昆明人, 副主任药师, 理学博士, 主要从事医院药学工作。Tel: (0871) 5344730

表 1 5 种植物中 金丝桃素 含量

Table 1 Hypericin in five plants of *Hypericum* L

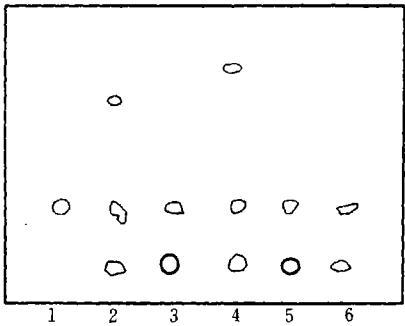
原植物	金丝桃素含量/(mg·100g ⁻¹)
云南小连翘	9.741
地耳草	6.250
短柄小连翘	9.265
扬子小连翘	4.465
遍地金	2.745



I- 金丝桃素标准品 II-地耳草 III-遍地金 IV-云南小连翘 V-扬子小连翘 VI-短柄小连翘
I-hypericin standard II-*H. japonicum* III-*H. wightianum* IV-*H. petiolulatum* subsp. *yunnanense*
V-*H. faberi* VI-*H. petiolulatum*

图 1 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatogram



1-标准品 2-云南小连翘 3-短柄小连翘
4-扬子小连翘 5-地耳草 6-遍地金
1-standard 2-*H. petiolulatum* subsp. *yunnanense*
3-*H. petiolulatum* 4-*H. faberi* 5-*H. japonicum*
6-*H. wightianum*

图 2 金丝桃素标准品与 5 种植物提取物的 TLC
Fig 2 TLC spectrum of five plants of *Hypericum* L

其配比作了系列比较。发现当流动相配比为甲醇 乙腈 乙酸= 50: 50: 0.5 时, 样品中 金丝桃素 与其他物质分离效果良好, 保留时间为 2.92 min(图 1-I)。

3.2 由于诸多客观因素的影响, 仅靠保留时间定性还不够可靠。为了准确鉴定未知峰, 先采用薄层分析法与标准品对照, 5 种植物提取物均出现与 金丝桃素 标准品 Rf 相同, 在 254 nm 紫外光下呈现红色荧光的斑点(图 2)。

3.3 金丝桃属植物中 金丝桃素 的分布主要是贯叶连翘 *H. perforatum*^[3]。国内有研究者发现 地耳草、扬子小连翘 中含有 金丝桃素 , 本研究首次发现 遍地金、云南小连翘、短柄小连翘 及生长于云南的 地耳草和扬子小连翘 中含有 金丝桃素 , 并测定了其含量。

References:

[1] Pan Y H, Guo B L. The outline of the studies on native *Hypericum* plants [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1993, 16(3): 40-42.
[2] Pan Y H, Guo B L, Peng Y. The outlook of the resource and utilization on native *Hypericum* plants [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1993, 16(3): 14-18.
[3] Information Center of Chinese Herbal Medicine. State Pharmaceutical Administration of China *Handbook of Active Constituents in Phytomedicine* (植物药有效成分手册), Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

粉萆 和绵萆 中薯蓣皂苷元的含量测定

莫可丰*

(南宁市药品检验所, 广西 南宁 530001)

粉萆 和绵萆 均为《中华人民共和国药典》2000 年版收载品种^[1]。粉萆 为薯蓣科植物粉背薯蓣 *Dioscorea hypoglauca* Palibin 的干燥根茎, 具有利湿去浊, 祛风除痹之功效; 用于膏淋、白浊、白带过

多、风湿痹痛、关节不利、腰膝疼痛。绵萆 为薯蓣科植物绵萆 *D. septemloba* Thunb. 的干燥根茎, 具有利湿去浊, 祛风通痹之功效, 用于淋病白浊、白带过多、湿热疮痛、腰膝痹痛。二者均为秋冬两季采

* 收稿日期: 2002-07-24
作者简介: 莫可丰(1963-), 女, 广西南宁市人, 副主任药师, 1983 年毕业于广西中医学院药学系中药专业, 主要从事药品检验分析工作, 研究方向为药品质量标准及制定。Tel: (0771) 3132340