

HPLC 法测定墓头回中金丝桃苷

曹艳萍

(榆林学院 化学系, 陕西 榆林 719000)

墓头回别名箭头风、臭罐子等,系败酱科败酱属植物异叶败酱 *Patrinia heterophylla* Bunge 或糙叶败酱 *Patrinia scabra* Bunge 根及全草^[1]。有消肿排脓、祛瘀止痛^[2],及对体内、外肿瘤细胞有强大的杀伤作用^[3]。对该植物的化学成分研究表明,主要是以齐墩果酸苷元和常春藤苷元组成的三萜皂苷^[4]。近年发现异叶败酱含有金丝桃苷(hyperin)、异槲皮苷(isoquercitrin)等黄酮类化合物^[5],但对其定量测定未见报道。本实验研究表明墓头回含有金丝桃苷,建立起用 HPLC 测定墓头回中金丝桃苷的方法,并对 7 种不同产地墓头回植物中金丝桃苷的量进行了测定,为墓头回药材的质量控制提供了新的测定指标与方法。

1 仪器、试剂与药品

日本岛津高效液相色谱仪(包括 Lc-10ATvp 泵、SPD-10Avp 紫外检测器和 SPD-M10Avp 二极管阵列检测器),7725 型手动进样阀(美国 Rneodyne 公司),ANASTAR 色谱工作站(奥泰科技有限公司),KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

金丝桃苷对照品购自中国药品生物制品检定所,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,墓头回植物药材购于各地药店或直接从产地收集,均由榆林市药品检验所杨宏华教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Kromail ODS 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 0.5 μm);流动相为甲醇-0.025 mol/L 磷酸(用三乙胺调 pH 为 3.0)(55:45);体积流量 1.00 mL/min;柱温为室温(25 ℃);检测波长为 365 nm。在该色谱条件下金丝桃苷的保留时间是 9.46 min。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的金丝桃苷对照品 5.25 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,精确吸取 2.0 mL 溶液置于 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀得质量浓度为 0.021 mg/mL 的对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的墓头回根粉末(100 目)0.5 g 于 50 mL 量瓶中,加甲醇约 40 mL,超声提取 60 min,静置冷却,加甲醇至刻度,摇匀。进样前经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2.4 标准曲线和线性范围:精确吸取对照品溶液(21 mg/L);2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL,分别进样 3 次,测定金丝桃苷的峰面积值,以进样量(μg)为横坐标,色谱峰峰面积为纵坐标作图,得回归方程: $Y=1\,544\,597.50 X-291$, $r=0.999\,8$,进样量在 0.050~0.25 μg 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 10 μL,按选下的色谱条件进样测定,重复 5 次,结果金丝桃苷对照品峰面积的 RSD 为 1.34%。

2.6 重现性试验:精密称取烘至恒重的榆林墓头回根粉末(100 目)0.5 g 5 份。按“供试品溶液的制备”进行平行提取,在选定色谱条件下测定其量,结果重现性良好,RSD 为 1.80%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液,按每 2 h 进样 1 次,测定峰面积,结果供试品溶液在 6 h 内稳定,金丝桃苷峰面积的 RSD 为 0.90%($n=5$)。

2.8 回收率试验:精密称取榆林墓头回根干燥粉末(100 目)0.5 g,加入适量金丝桃苷对照品液,照供试品测定方法提取测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.8%,RSD 为 0.8%($n=5$)。

2.9 金丝桃苷的测定:对来自不同产地的墓头回各取 3 份,按“供试品溶液的制备”进行提取,在选定色谱条件进行测定,按外标法以峰面积计算,结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 样品中金丝桃苷测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of hyperin in samples ($n=3$)

样品来源	金丝桃苷/%	RSD/%
陕西榆林	0.129	1.35
陕西延安	0.128	1.59
河南洛阳	0.110	1.78
山东济南	0.092	1.93
陕西长安	0.135	1.60
江苏无锡	0.088	1.72
陕西卢县	0.134	1.90

收稿日期:2005-12-03

作者简介:曹艳萍(1958—),女,陕西绥德人,教授,主要从事药物分析和有机化学研究。

Tel:(0912)3218066 E-mail:caoy_p_0923@163.com

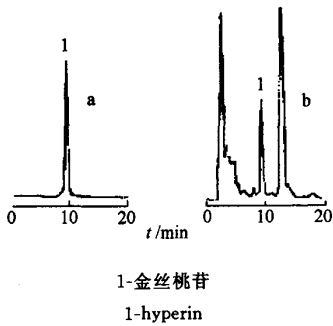


图 1 金丝桃苷(a)和样品(b)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of hyperin (a) and sample (b)

3 讨论

3.1 色谱条件的选择:探索了高效液相色谱法的流动相,比较了甲醇-0.025 mol/L 磷酸(用三乙胺调 pH 为 3.0)(55 : 45);甲醇-0.025 mol/L 磷酸(55 : 45),水-异丙醇-冰醋酸(80 : 17 : 3)。结果发现,选用甲醇-0.025 mol/L 磷酸(用三乙胺调 pH 为 3.0)(55 : 45)为流动相进行分离,效果较好。经多次测试,系统具有很好的重现性和稳定性。且保留时间适中,峰形较好并可与杂质完全分离。

对金丝桃苷进行紫外扫描,选择最大吸收峰波长,结果表明紫外区有两个吸收峰。在选用 258 nm 波长下测定时,色谱峰中金丝桃苷与其他组分分离

不完全,测定波长改用 365 nm,同时选用本实验的流动相系统,金丝桃苷与其他组分色谱峰得到完全分离。

3.2 样品测定:本实验对不同产地的葛头回生药进行了考察,结果表明金丝桃苷的量与产地有关,以长安、户县产葛头回量较高(0.135%、0.134%),济南、无锡产葛头回中金丝桃苷量较低(0.092%、0.088%)。

3.3 根据本品测定的结果,高效液相色谱法可以较好分离出葛头回的主成分峰和杂质峰,能反映样品的真实量,方法简便、准确、灵敏有利于药品质量的控制。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Yang H H. *New Chinese Materia Medica Volume* (新中药集萃) [M]. Harbin: Heilongjiang People's Publishing House, 1998.
- [3] Chen Y, Chen J M. Research Survey of *Patrinia* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(2): 101-105.
- [4] Lei H M, Zhu R, Wei L X. Chemical constituent of *Patrinia heterophylla* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1997, 32(5): 271-273.
- [5] Lei H M, Zhu R, Lü J X. The study on flavonoids in *Patrinia heterophylla* Bge. [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1995, 10(4): 154.

RP-HPLC 法测定不同产地槐米中芦丁

李培凡,张颖慧*,肖莉,晋兴华

(天津大学药物科学与技术学院,天津 300072)

芦丁又名芸香苷、紫榭皮苷,是榭皮素的 3-O-芸香糖苷,为一来源很广的黄酮类化合物。主要存在于豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的花蕾(槐花米)、果实(槐角)中。槐米主要产于天津、北京郊区、河北、山东及江苏等地区^[1,2]。芦丁是其主要活性成分,具有广泛的药理活性,开发前景广阔。芦丁的分析方法,已报道有分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法、毛细管电泳法等^[3~5]。为了综合开发利用药物植物资源,掌握不同地区槐花中芦丁的量,为药材及其制剂的质量控制提供依据。本实验采用 RP-HPLC 法对不同产地的槐米进行了质量评价,以确定该药材的主要收购地区。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,SPD-6AV 紫外检测器,LC-6A 输液泵,ANASTAR 色谱工作站,MILLP 超纯水器,超声波清洗器。

对照品芦丁(中国药品生物制品检定所提供),甲醇、乙腈为色谱纯试剂,其他试剂均为分析纯,重蒸水(自制,0.45 μm 滤膜滤过)。

槐米采自天津,北京郊区,河北省的沧州、石家庄,河南新乡、洛阳,山东德州、济南等。槐米药材经天津市药品检验所中药室吴贵华鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Spherisorb ODS C₁₈(150 mm×4.6

收稿日期:2006-03-10

作者简介:李培凡(1968—),女,北京人,在读博士研究生,研究方向为药物分析及药物代谢动力学。

* 通讯作者 张颖慧 Tel:(022)27401186 E-mail:yunhuiz@eyou.com