

HPLC 法测定贯叶金丝桃中芦丁和金丝桃苷的含量

陈英红¹ 董芳¹ 姜翔之² 姜瑞芝¹ 王颖¹ (1. 吉林省中医药科学院 长春 130012; 2. 吉林大学中日联谊医院)

摘要 目的: 建立贯叶金丝桃中芦丁与金丝桃苷的含量测定方法。**方法:** 采用高效液相色谱仪,使用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-乙腈-四氢呋喃-0.4% 醋酸 (1:1:18:80),流速为0.7 ml·min⁻¹,检测波长为 358 nm,柱温为 30℃。**结果:** 芦丁在0.206~1.236 μg范围内有良好的线性关系, $r=0.999\ 9$ 。金丝桃苷在0.144~0.864 μg范围内有良好的线性关系, $r=0.999\ 8$;芦丁的平均加样回收率为98.57%, RSD 为0.94%,金丝桃苷的平均加样回收率为98.57%, RSD 为0.94%。**结论:** 该方法简便快捷,准确度高。

关键词 贯叶金丝桃;芦丁;金丝桃苷;高效液相色谱法

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2012)10-1429-02

Determination of Rutin and Hyperoside in *Hypericum Perforatum* L. by HPLC

Chen Yinghong¹, Dong Fang¹, Jiang Xiangzhi², Jiang Ruizhi¹, Wang Ying¹ (1. Jilin Academy of Traditional Chinese Medicine and Material Medical Sciences, Changchun 130012, China; 2. Japan-China Union Hospital)

ABSTRACT Objective: To establish an HPLC method for the determination of rutin and hyperoside in *Hypericum perforatum* L. . **Method:** A Diamonsil C₁₈ column(250 mm×4.6 mm,5 μm) was eluted by the mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-tetrahydrofuran-0.4% acetic acid (1:1:18:80) at the column temperature of 30℃. The flow rate was 0.7 ml·min⁻¹ and detection wavelength was 358 nm. **Result:** Rutin was linear within the range of 0.206-1.236 μg with a regression coefficient of 0.999 9, and the average recovery was 98.79% with RSD of 0.91%. Hyperoside was linear within the range of 0.144-0.864 μg with a regression coefficient of 0.999 8, and the average recovery was 98.57% with RSD of 0.94%. **Conclusion:** The method is quick, simple and sensitive.

KEY WORDS *Hypericum perforatum* L. ;Rutin;Hyperoside;HPLC

贯叶金丝桃主要成分有芦丁、金丝桃苷等,具有清热解毒,止血,利尿等功效。为有效控制药材质量,对贯叶金丝桃药材的含量测定方法进行了研究,采用 HPLC 法建立了测定贯叶金丝桃中芦丁、金丝桃苷的含量方法。报道如下。

1 仪器与试剂

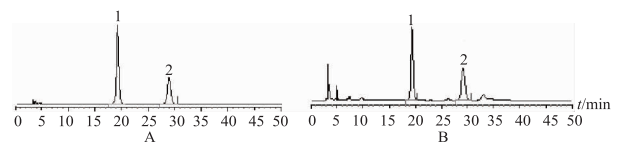
LC-2010 高效液相色谱仪, CLASS-VP 工作站(日本岛津分析仪器有限公司)。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号:0080-9705),金丝桃苷对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号:111521-200303)。贯叶金丝桃购于亳州药材市场,经本院中药室徐国经教授鉴定为藤黄科植物贯叶金丝桃全草。甲醇、乙腈、四氢呋喃为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 : Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm,5

μm);甲醇-乙腈-四氢呋喃-0.4% 醋酸 (1:1:18:80) 为流动相 ;流速为0.7 ml·min⁻¹;检测波长为 358 nm ;柱温 :30℃。进样量 10 μl。理论塔板数按芦丁峰计算,不得低于 6 000。色谱图见图 1。



A. 对照品 B. 供试品 1. 芦丁 2. 金丝桃苷

图 1 HPLC 色谱图

2.2 对照品溶液的制备

精密称取芦丁、金丝桃苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含芦丁 103 μg 和金丝桃苷 72 μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取药材细粉 1 g,精密称定,置磨口烧瓶中,加 60% 乙醇 50 ml 超声提取 30 min,滤过,用 60% 乙醇洗涤滤渣,合并洗液和滤液,蒸干,加甲醇溶解定容

基金项目:吉林省科技发展计划项目(编号:20115092)

通讯作者:陈英红 Tel: (0431)86058667 E-mail: zhongyancyh@yahoo. com. cn

至 50 ml 容量瓶中,用0.45 μm滤膜过滤,即得。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取芦丁和金丝桃苷的混合对照品溶液 2,4,6,8,10,12 μl 注入液相色谱仪中,测定峰面积,以峰面积和进样量进行线性回归。芦丁回归方程: $Y = 2.26 \times 10^6 X - 71.49$, $r = 0.999\ 9$,线性范围:0.206 ~ 1.236 μg;金丝桃苷回归方程: $Y = 2.42 \times 10^6 X + 166.50$, $r = 0.999\ 8$,线性范围:0.144 ~ 0.864 μg。结果表明,芦丁和金丝桃苷对照品在上述范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取上述混合对照品溶液 5 μl,进行重复进样 6 次,按上述色谱条件测定,结果芦丁和金丝桃苷对照品色谱峰的 *RSD* 分别为0.75%、0.88%。结果表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.3”项下的供试品溶液,分别在 0,2,4,6,8,10 h 进样 10 μl,测定各峰面积,计算芦丁、金丝桃苷含量,其 *RSD* 分别为0.85%、0.72%。结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号的药材 1 g,按“2.3”项下的方法,精密称定 6 份,制备供试品溶液,平行测定,计算芦丁、金丝桃苷含量,结果平均含量分别为0.42%、0.25%,*RSD* 分别为1.24%、1.45%,表明此方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取芦丁、金丝桃苷对照品适量,配制成浓度为0.52、0.31 mg · m l⁻¹的混合对照品溶液。取已知含量的药材0.5 g,平行试验 6 份,精密称定,分别加入混合对照品溶液 5 ml,按“2.3”项下的方法制备供试液,精密吸取 10 μl,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,芦丁的平均加样回收率为 98.79%,*RSD* 为0.91%,金丝桃苷的平均加样回收率为98.57%,*RSD* 为0.94%。

2.9 样品含量测定

取 5 批样品细粉,按“2.3”项下操作,制成供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μl 进样。计算含量。

结果见表 1。

表 1 样品中芦丁、金丝桃苷含量测定结果($n = 3$)

样品	芦丁(%)	金丝桃苷(%)
1	0.45	0.28
2	0.42	0.25
3	0.46	0.27
4	0.50	0.30
5	0.38	0.22

3 讨论

3.1 供试品制备方法的考察

在对贯叶金丝桃药材中芦丁、金丝桃苷的含量测定中,曾对不同溶剂和不同提方法进行了考察。首先对超声、回流两种提取方法进行研究,结果回流提取与超声提取所测含量接近,超声提取简便,所以选用此法。根据芦丁、金丝桃苷的化学性质,分别采用 50%、60%、70% 的乙醇、甲醇进行超声提取,结果 60% 乙醇提取效率最高。在此基础上对提取时间(20,30,40 min)及提取溶剂用量(40,50 ,60 ml)进行考察,最终确定了如前文所述的供试品溶液制备方法。

3.2 流动相的考察

选择甲醇-3% 冰醋酸溶液(48:52)^[1],乙腈-0.2% 醋酸溶液(18:82)^[2,3],无法将芦丁与金丝桃苷很好的分离。采用药典项下的条件^[4]并调整为甲醇-乙腈-四氢呋喃-0.4% 醋酸(1:1:18:80),其中芦丁的保留时间为19.325 min,金丝桃苷的保留时间为29.654 min,此条件下芦丁与金丝桃苷可以很好的分离,且无干扰。

参 考 文 献

- 1 江东波,李向荣,吴育思,等. 正交试验法优选复方山楂降压片中药材的提取工艺研究[J]. 中国药师,2010,13(4):521-522
- 2 王峰,高天兵,田金改. RP-HPLC 法测定贯叶连翘片剂中有效成分金丝桃素和金丝桃苷的含量[J]. 药物分析杂志,2000,20(2):101-103
- 3 刘丙燕,王彬彬. HPLC 法测定清热散结片中金丝桃苷的含量[J]. 中国药师,2011,1(8):1218-1219
- 4 中国药典[S]. 2010 年版.一部.30-31
(2012-06-09 收稿 2012-07-10 修回)