

高效液相色谱法测定地榆中金丝桃甙的含量

沙 明 曹爱民 王 冰 刘春丽*

(辽宁中医学院 沈阳 110032)

耿 杰

(丹东市第二医院 丹东 118002)

刘 威

(普兰店市中医院 普兰店 116200)

提 要 采用高效液相色谱法测定了地榆中金丝桃甙的含量。色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS 柱, 以甲醇-0.025 mol/L 磷酸(50:50)为流动相, 检测波长370nm, 测定组分与其它组分的色谱峰达到基线分离。加样回收率平均值为98.7%, RSD 为1.9%。为控制中药地榆的内在质量提供了新的测定指标和可靠的方法。

关键词 高效液相色谱法, 金丝桃甙, 地榆

分类号 O658/R93

1 前言

地榆(*Sanguisorba officinalis* L.)为蔷薇科地榆属植物,是中国药典1995年版一部收载的两种药用植物之一。该药凉血止血,解毒敛疮,可用于便血、痔血、血痢、崩漏、水火烫伤及痈肿疮毒的治疗。地榆中含有多种化学成分,主要为鞣质、皂甙^[1],中国药典规定测定其中鞣质的含量以控制地榆的质量^[2]。最近文献报道地榆中含有黄酮类化合物^[3],但其含量的测定尚无报道。本实验研究证实地榆中含有金丝桃甙,药理学研究表明其具有强烈的镇痛作用^[4],而地榆在临床上治疗烧烫伤时,止痛效果显著,可能与金丝桃甙的止痛作用有关。本文采用高效液相色谱法测定了地榆中金丝桃甙的含量,为地榆的质量控制提供了新的测定指标与方法。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-6AV 紫外-可见分光检测器, C-R3A 色谱数据处理机, SIL-6A 自动进样器。

金丝桃甙(hyperin)对照品购于德国 Carl Roth 公司。甲醇为色谱纯,其它试剂均为分析纯。地榆药材于1996年9月采自辽宁省千山地区,经本院中药系植物教研室郑太坤教授鉴定为 *Sanguisorba officinalis* L.。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS 柱(6.0mm i.d. × 150mm, 5μm), 流动相为甲醇-0.025 mol/L 磷酸

(用三乙胺调 pH 为3.0)(50:50), 检测波长370nm, 流速1.0mL/min, 柱温25℃。

2.3 对照品溶液的配制

精确称取金丝桃甙对照品5.75mg 置于10mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度。精确吸取2.0mL 溶液置于50mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。对照品溶液浓度为0.023g/L。

2.4 样品制备

将地榆药材干燥并粉碎,过100目筛。精确称取地榆粉末0.5g 置于50mL 量瓶中,加甲醇约40mL,在超声波发生器内提取30min,静置冷却,加甲醇至刻度,摇匀。进样前经0.45μm 微孔滤膜过滤。

3 结果与讨论

3.1 样品色谱图分析

通过比较试验发现,采用 Shim-pack CLC-ODS 柱,以甲醇-0.025 mol/L 磷酸(50:50)为流动相,可使样品中金丝桃甙与其它组分的色谱峰达到基线分离(见图1)。理论板数按金丝桃甙色谱峰计算为4635(色谱柱长150mm)。

为了提高黄酮化合物的分离度,本实验采用甲醇和0.025 mol/L 磷酸的二元流动相体系,但实验中发现色谱峰有拖尾现象。经反复实验发现,在1000mL 的25mmol/L 磷酸中加入1.8mL 三乙胺时的分离效果最佳,经多次、多批样品测试,系统具有很好的重复性和稳定性。三乙胺能与 ODS 柱中键合相的残余硅醇基相互作用,削弱测定组分分子的亲硅醇基效应,有助于改善峰形。

* 辽宁中医学院中药系九七届毕业生
本文收稿日期:1996-12-21, 修回日期:1997-05-16

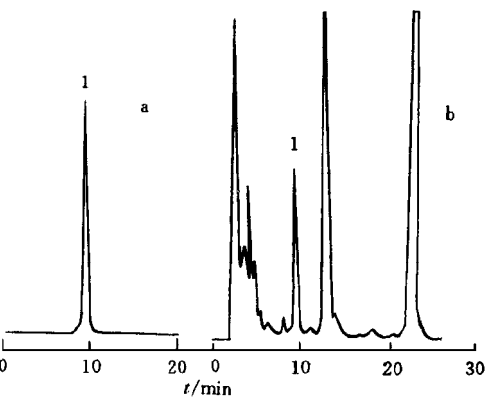


图1 金丝桃甙色谱图
Fig. 1 Chromatograms of hyperin
a. 标准物(standard), b. 样品(sample).
1. 金丝桃甙(hyperin, 9.642min).

3.2 线性关系及最低检出量

精确吸取对照品溶液(23mg/L)2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0μL, 分别进样3次, 测定金丝桃甙的峰面积值。以进样量(μg)为横坐标, 色谱峰峰面积为纵坐标作图, 得回归方程为: $Y = 1\,545\,517.39X - 2\,838.4$, $r = 0.999\,8$, 进样量在0.046~0.23μg 范围内线性关系良好。重复进样5次, 相对标准偏差为1.8%。金丝桃甙的最低检出量为1.6ng。

3.3 样品的测定

精确吸取样品溶液10μL 注入液相色谱仪中, 测定其中金丝桃甙色谱峰峰面积, 用外标法计算样品中金丝桃甙的百分含量, 结果见表1。

本实验还对市售中药地榆饮片进行了分析, 结果见表2。

表1 采集药材中金丝桃甙的含量

Table 1 Determination of Hyperin in collected herb sample					
编号 No.	称重 Weight W/g	峰面积 Area (× 10 ⁻⁵)	含量 Content (%)	平均值 Average (%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	0.498 1	1.934 93	0.128	0.13	1.9
2	0.481 1	1.942 66	0.132		
3	0.508 3	2.014 27	0.130		
4	0.392 1	1.585 52	0.133		
5	0.743 7	2.893 98	0.127		

表2 饮片测定结果

Table 2 Results of tablet preparations		
样品来源 Source of sample	测定结果(n= 3) Average content (%)	相对标准偏差 RSD (%)
安徽亳州 Bozhou of Anhui	0.12	2.0
河北安国 Anguo of Hebei	0.10	2.1
辽宁中医附属医院 Liaoning Hospital of Traditional Chinese Medicine	0.12	2.0
沈阳东风药房 Shenyang Dongfeng Drugstore	0.08	2.3
鞍山 Anshan	0.42	1.9
普兰店 Pulandian	0.17	1.4
铁岭 Tieling	0.05	2.4

从中药饮片地榆中 金丝桃甙的测定结果可知, 除了少数地区样品高于或偏低 于采集样品中 金丝桃甙含量外, 其余样品的含量均在0.1%左右, 与采集的样品含量相近。同时发现不同地区的饮片样品色谱图中除 金丝桃甙外, 其它主要组分的色谱峰峰面积有明显的变化, 可能与地榆的品种、产地有关。本方法不仅对药材中 金丝桃甙含量测定具有实用价值, 而且通过全成分分析, 可对地榆内在质量的真伪优劣做出参考评价。

3.4 回收率的测定

精确称定地榆粉末0.5g 置于50mL 量瓶中, 精

确吸取 金丝桃甙对照品溶液(0.575g/L)1.0mL, 按样品制备方法 及测定方法操作。加样回收率平均值为98.7% (n= 5), RSD 为1.9%。

参 考 文 献

1 徐国钧, 徐珞珊主编. 常用中药材品种整理和质量研究. 福州: 福建科学技术出版社, 1994. 193~ 210
2 中华人民共和国药典. 1995年版一部. 广州: 广东科技出版社, 1995. 102
3 程东亮, 曹小平, 邹佩秀等. 中草药, 1995, 26(11): 570 ~ 571
4 陈志武, 马传庚, 方 明等. 药学报, 1994, 29(1): 15 ~ 19

Determination of Hyperin in *Sanguisorba Officinalis* L. by High Performance Liquid Chromatography

Sha Ming, Cao Aimin, Wang Bing, Liu Chunli, Geng Jie¹ and Liu Wei²

(Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110032)

¹(Second Hospital of Dandong, Dandong, 118002)

²(Pulandian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Pulandian, 116200)

Abstract An HPLC method for the determination of hyperin in *Sanguisorba officinalis* L. was investigated. 0.5g of dried powdered crude drug was weighed accurately in a 50mL volumetric flask added with 40mL methanol, supersonicated for 30min and then made up to volume with methanol. The sample solution was separated on a Shim-pack ODS column (6.0mm i.d. × 150mm, 5μm) with methanol-0.025mol/L phosphoric acid (adjusted to pH 3.0 by using triethylamine) (50:50) as the mobile phase and detected at UV-370nm. Calibration curve of hyperin was obtained for the concentration range of 0.046-0.2μg. The corresponding regression equation was $Y = 154 \times 10^4 X - 0.28 \times 10^4$, $r = 0.9998$. The recovery was 98.7% and relative standard deviation was 1.9%. The results showed that this method is simple, specific and accurate.

Key words high performance liquid chromatography, hyperin, *Sanguisorba officinalis* L.

特价供应 美国 Fisher HPLC 级试剂

好马配好鞍,精密的 HPLC 仪要使用高品质的试剂

京仪通向您提供最高品质的 Fisher 色谱纯试剂。如果您有精密的 HPLC 仪,如果您想得到理想的实验结果,您一定希望使用高品质的进口色谱纯试剂,但是价格……

别耽心,京仪通给您提供机会,原装美国 Fisher 的试剂,国内的价格!

以下产品皆为 HPLC 级,达 ACS 指标。

大包装:4L/瓶 4瓶/箱

乙腈588元

甲醇228元

京仪通为 Fisher 在中国北方指定代理;现货供应各种色谱纯试剂、药品,并期货订购所有 Fisher 化学品、药品及仪器设备。

美国飞世尔科学世界公司中国北方现货中心

北京京仪通科技开发有限公司

北京市西城区阜成门外大街北二巷豪轩写字楼208室

邮编:100037

电话:010-68316792

传真:010-68316807