

RP-HPLC法测定罗布麻叶饮片中金丝桃苷的含量

黄楚权^{1*},熊斌²(1.广东省人民医院/广东省医学科学院,广州 510080;2.无限极(中国)有限公司质量部产品检测中心,广州 510080)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2180-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.24

摘要 目的:建立测定罗布麻叶饮片中金丝桃苷含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.015 mol/L磷酸二氢钾溶液(1:9, V/V,用氢氧化钾或磷酸调pH=5.0),流速为1.0 ml/min,柱温为30℃,检测波长为260 nm。结果:金丝桃苷的质量浓度在10~200 μg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9998$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均<2%;平均加样回收率为97.8%,RSD=1.5%($n=9$)。结论:该方法简单、可行,结果准确、重复性好,可用于罗布麻叶饮片的质量控制。

关键词 罗布麻叶;饮片;金丝桃苷;反相高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Hyperoside in *Apocynum venetum* Decoction Pieces by RP-HPLC

HUANG Chu-quan¹, XIONG Bin²(1.Guangdong Provincial People's Hospital/Guangdong Academy of Medical Science, Guangzhou 510080, China; 2. Product Detection Center, Quality Department, Infinitus (China) Limited Co., Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of hyperoside in *Apocynum venetum* decoction pieces. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.015 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (1:9, V/V, pH adjusted to 5.0 with KOH or phosphoric acid) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30℃ and detection wavelength was 260 nm. RESULTS: The linear range of hyperoside were 10-200 μg/ml ($r=0.9998$) with average recovery of 97.8% (RSD=1.5%, $n=9$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: This method is simple, feasible, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of *A. venetum* decoction pieces.

KEY WORDS *Apocynum venetum*; Decoction pieces; Hyperoside; RP-HPLC; Content determination

罗布麻叶为常用中药材,系夹竹桃科植物罗布麻 *Apocynum venetum* L.的干燥叶,具平肝安神、清热利水之功效,主治肝阳眩晕、心悸失眠、浮肿尿少、高血压、神经衰弱、肾炎浮肿等症;亦作茶饮,具清凉去火、防止头晕等保健作用。现代药理研究表明,罗布麻叶具有降血压、降血脂、增强免疫、抗衰老等作用,其主要活性成分为槲皮素、异槲皮苷、金丝桃苷、紫云英苷等多种黄酮类化合物^[1-4]。为有效控制罗布麻叶的质量,促进临床安全用药,本试验建立了以反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定罗布麻叶饮片中金丝桃苷含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,含紫外检测器等(美国Agilent公司);AE-240型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

1.2 试剂

金丝桃苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:120979-200704,纯度:93.9%);乙腈为色谱纯,水为Milli-Q纯净水,其他试剂均为分析纯。

1.3 药材

罗布麻叶饮片(中山市中智中药饮片有限公司,批号:

20110901、20110902、20110903),经广州中医药大学李薇教授鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.015 mol/L磷酸二氢钾溶液(1:9, V/V,用氢氧化钾或磷酸调pH=5.0);柱温:30℃;流速:1.0 ml/min;检测波长:260 nm;进样量:10 μl。在此色谱条件下,供试品图谱中金丝桃苷峰与相邻色谱峰的分度度>1.5;理论板数按金丝桃苷色谱峰计算应为8674。色谱见图1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取金丝桃苷对照品适量,加流动相溶解并稀释制成质量浓度为200 μg/ml的溶液,作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液5 ml,加流动相稀释制成质量浓度为50 μg/ml的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取罗布麻叶饮片适量,研细,精密称取粉末(过二号筛)约1.0 g,置锥形瓶中,精密加入50%甲醇100 ml,密塞,称质量,加热回流1 h,放冷,再次称质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:020-83827812。

E-mail:18922357088@163.com

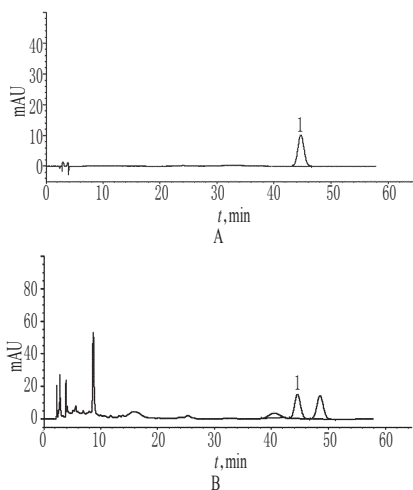


图1 高效液相色谱图

A. 金丝桃苷照品; B. 供试品; 1. 金丝桃苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. hyperoside control; B. test sample; 1. hyperoside

取对照品贮备液适量,加流动相稀释制成质量浓度分别为10、25、50、100、200 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液,精密吸取10 μl 进样,各2次以上,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积积分值(A)对对照品质量浓度(c)进行线性回归,得回归方程为 $A=15.483c-13.177$ ($r=0.9998, n=5$)。结果表明,金丝桃苷的质量浓度在10~200 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取对照品溶液10 μl ,按上述色谱条件连续进样测定5次,记录峰面积。结果, $RSD=0.8\%$ ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液适量,分别于1、3、6、9、12、24 h进样10 μl ,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果, $RSD=1.3\%$ ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批罗布麻叶饮片粉末适量,共6份,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算罗布麻叶饮片中金丝桃苷的含量。结果,金丝桃苷的平均质量分数为0.39%, $RSD=1.0\%$ ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已测定金丝桃苷质量分数(0.39%)的同一批罗布麻叶饮片粉末约0.5 g,共9份,精密称定,置锥形瓶中,每3份为一组,分别精密加入相当于样品中金丝桃苷质量分数0.5、1.0、1.5倍的对照品各3份,并精密加入50%甲醇100 ml,密塞,称质量,加热回流1 h,放冷,再次称质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,按上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

2.9 耐用性试验

取对照品溶液适量,分别用Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)和Kromasil KR100-5 C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱重复进样6次测定,进行耐用性试验。结果,12次

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Result of recovery tests($n=9$)

称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
0.502 3	1.959 0	1.001 3	2.957 3	99.70	97.8	1.5
0.500 1	1.950 4	1.000 9	2.939 8	98.85		
0.497 9	1.941 8	0.999 5	2.905 6	96.43		
0.510 2	1.989 8	1.990 7	3.975 9	99.77		
0.508 2	1.982 0	1.987 2	3.895 8	96.31		
0.500 9	1.953 5	1.990 1	3.896 7	97.64		
0.499 6	1.948 4	2.993 8	4.901 5	98.64		
0.510 6	1.991 3	3.001 2	4.897 6	96.84		
0.512 7	1.999 5	2.989 6	4.869 3	95.99		

进样的峰面积的 $RSD=1.0\%$ ($n=12$),表明本方法耐用性较好。

2.10 样品含量测定

取3批罗布麻叶饮片粉末各适量,分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中金丝桃苷的含量。结果,3批罗布麻叶饮片(批号:20110901、20110902、20110903)中金丝桃苷的质量分数分别为0.39%、0.42%、0.43%。

3 讨论

中药饮片是中医临床方剂的基本组成部分,也是中成药的基本原料,其质量的优劣直接影响到中医药的临床疗效,关系到使用者的身体健康,因此对中药饮片质量标准的补充和完善很有必要^[5-6]。2010年版《中国药典》(一部)并未收载罗布麻叶饮片的质量标准。考虑到金丝桃苷是罗布麻叶中起主要药效的黄酮类物质,所以本试验参考相关文献,建立了用RP-HPLC法测定罗布麻叶饮片中金丝桃苷含量的方法。

在样品提取方法的选择上,试验比较了用50%甲醇超声0.5 h与加热回流1 h的结果,发现加热回流法的提取效率高于超声提取法,因此选用加热回流1 h提取样品;经选用乙腈、甲醇分别与磷酸盐溶液的不同比例进行色谱条件分离后,确定用乙腈和0.015 mol/L磷酸二氢钾溶液(1:9, V/V)为流动相,分离效果较理想。

综上,本方法简单、可行,结果准确、重复性好,可用于罗布麻叶饮片的质量控制。

参考文献

- [1] 王李丽,程显隆,赵英永,等.RP-HPLC法测定罗布麻叶及其中成药中3个黄酮类成分的含量[J].药物分析杂志,2011,31(5):903.
- [2] 周春玲,孙苓苓,毕开顺.RP-HPLC法测定罗布麻叶中金丝桃苷和罗布麻素的含量[J].药物分析杂志,2009,29(6):1 001.
- [3] 于立军.罗布麻叶指纹图谱研究和品质评价[J].中国药房,2008,19(24):1 874.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:196.
- [5] 索姣.中药饮片的现状分析[J].临床合理用药杂志,2011,2(4):136.
- [6] 高卫东.如何提高饮片质量[J].陕西中医,2011,32(1):92.

(收稿日期:2013-02-27 修回日期:2013-04-18)