

# 高效液相色谱法比较不同种属和产地罗布麻叶中金丝桃苷的含量\*

韩利文,侯晋军,李云兰,梁泰刚,李青山<sup>\*</sup> (山西医科大学药学院,太原 030001)

**摘要:**目的 建立罗布麻叶中有效成分金丝桃苷的 HPLC含量测定方法,并且对不同种属和产地的罗布麻叶进行比较。方法 采用 Shim-Pack VP-ODS色谱柱;乙腈-四氢呋喃-0.1%醋酸(15.5:5.5:79)为流动相;流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长为 360 nm;柱温为 30℃;进样量 20μL。结果 金丝桃苷线性范围 0.01~0.2 mg·mL<sup>-1</sup>( $r=0.9999$ );重复性试验 RSD=1.02%( $n=5$ );平均回收率为 101.5%,RSD=2.1%;罗布麻属罗布麻叶中金丝桃苷含量在 0.60~0.91%,白麻属两种含量在 0.39~0.55%。结论 本方法结果准确,重现性好,发现罗布麻属和白麻属两属之间金丝桃苷含量差异明显,为建立完善罗布麻叶质量标准提供依据。

**关键词:**罗布麻叶;金丝桃苷;高效液相色谱法

中图分类号:R917.792.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)05-0392-03

## Comparison of hyperoside in folium apocyni veneti of different species and areas by HPLC<sup>\*</sup>

HAN Li-wen, HOU Jin-jun, LI Yun-lan, LIANG Tai-gang, LI Qing-shan<sup>\*</sup> (School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for determination of hyperoside in Luobuma by RP-HPLC and compare the difference between samples from different resources. **METHODS** The assay was performed on Shim-Pack VP-ODS column, acetonitrile-tetrahydrofuran-0.1% acetic acid(15.5:5.5:79) was used as mobile phase, the rate of flow was 1.0 mL/min, detection wavelength was 365 nm, temperature of column was 30℃. **RESULTS** There was a good linear relationship within the concentration range of 0.01~0.2 mg·mL<sup>-1</sup>( $r=0.9999$ ). The average recovery of hyperoside was 101.5% and RSD was 2.1% ( $n=6$ ). The content of hyperoside was 0.60~0.91% in samples from Apocynum linn, and 0.39~0.55% in those from Poacynum baill. **CONCLUSION** The content of hyperoside in two species of Luobuma was found to be different. The method developed is reliable and accurate and can be used for quality control of folium apocyni veneti.

**KEY WORDS:** Folium Apocyni Veneti; hyperoside; HPLC

中药罗布麻叶是一味传统的平肝息风药。据《中国植物志》记载,罗布麻属于夹竹桃科,国内有两属三种,即罗布麻属罗布麻,别名红麻(*Apocynum venetum* Line),白麻属有两个种为大叶白麻(*Poacynum hendersonii*(Hook. f.) Woodson)和

白麻(*Poacynum pictum*(Schrenk) Baill)。其中红麻叶为中国药典收载品种。由于这三种“罗布麻叶”外形非常相似,加之目前罗布麻叶质控研究水平不高,中医临床常有混用情况发生。鉴于这种情况,笔者首次采用高效液相色谱法测定罗布

基金项目:山西医科大学学生创新项目(No.200444);山西省自然科学基金项目(No.2003050)

作者简介:韩利文,男,1980年7月生,山西医科大学药学院2002级硕士。主要研究方向:中药及天然药物现代质量控制方法研究。

\* 通讯作者:李青山,男,1965年生,教授,博士生导师,电话:0351-4690322, E-mail: qingshan1@yahoo.com. 山西省太原市新建南路56号山西医科大学药学院,030001。

麻叶中主要黄酮类成分金丝桃苷的含量,建立了有效成分的含测方法,提高了质量控制水平,调查收集不同种属和产地的样品,使用该法对各样品中金丝桃苷含量进行对比研究,发现不同种属之间的样品所含的金丝桃苷的含量有较大差异。笔者的研究结果为规范临床合理用药及进一步建立罗布麻药材和制剂质量标准提供了科学依据。

### 1 仪器、试剂与样品

仪器:日本岛津 LC 10A-VP 高效液相色谱仪, Shim-Pack VP-ODS 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 紫外检测器 SPD-10AVP。试剂:四氢呋喃(色谱纯,天津科密欧),纯化水(蒸馏水再经 0.45 μm 微孔滤膜过滤),其余试剂均为分析纯。对照品:金丝桃苷对照品(1521-200202)购自中国生物制品检定所。样品:罗布麻叶,均在当地药材公司或药市购买。所有样品由山西医科大学药学院生药教研室高建平教授鉴定。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-Pack VP-ODS 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm,

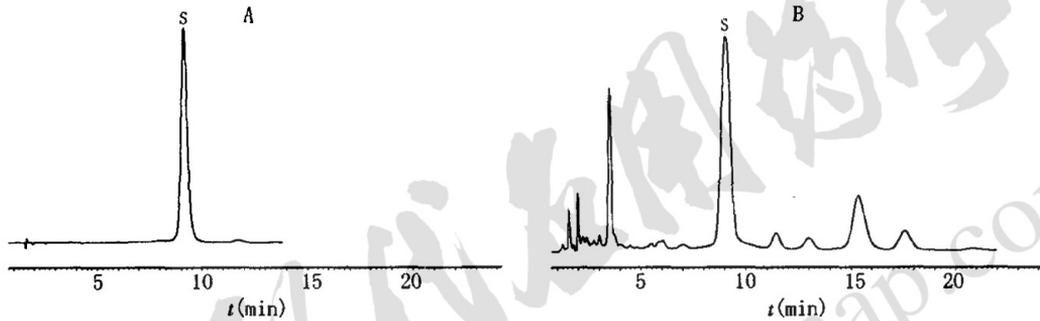


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms

A: 对照品; B: 红麻叶供试品; S: 金丝桃苷

A: standard B: sample of Folium Apocyni Veneti S: hyperoside

### 2.4 日内精密度的实验

精密吸取对照品溶液 (0.05 mg · mL<sup>-1</sup>) 20 μL, 连续进样 5 次, 结果金丝桃苷峰面积 RSD 为 1.8%。

### 2.5 日间精密度的实验

取同一份对照品溶液 (0.05 mg · mL<sup>-1</sup>), 于第 1, 3, 4, 5, 6 天分别精密吸取 20 μL 进样, 6d 内金丝桃苷峰面积 RSD 为 0.8%。

### 2.6 重复性实验

取山西运城产红麻叶(批号 040811), 按“2.3 供试液制备”方法制备 6 份供试液, 分别精密吸取 20 μL 进样, 金丝桃苷峰面积 RSD 为 1.02%。结果见表 1。

### 2.7 加样回收率实验

取干燥罗布麻叶(批号 040811)细粉 0.5g 置索氏提取器中, 按照 80%, 100%, 120% 加入对照品, 按“2.3”项下自“加氯仿 50mL...”起处理, 计算回收率, 结果表明金丝桃苷平均回收率为 101.5%, RSD = 2.1%。结果见表 2。

### 2.8 样品测定

分别称取各种属和产地的样品 1g 按“2.3”项下处理得供试液, 精密吸取供试液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 外标一

5 μm); 流动相: 乙腈-四氢呋喃-0.1% 醋酸 (15:5:5:79); 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长: 360 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。按金丝桃苷计, 理论塔板数不小于 3000。

### 2.2 工作曲线制备

精密称取金丝桃苷对照品 20 mg 置 100 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇溶解, 定容, 制成每 1 mL 含 0.2 mg 的母液。取上述对照品母液 0.5, 2, 5, 7.5, 10 mL 分别用 80% 甲醇定容至 10 mL, 按照上述色谱条件取 20 μL 进样进行测定以峰面积 (Y) 与浓度 (X) 绘制工作曲线, 回归方程为 Y = 50014832X + 64975.98 r = 0.9999。结果在 0.01 ~ 0.2 mg · mL<sup>-1</sup> 范围内, 线性关系良好。

### 2.3 供试液制备

精密称取干燥罗布麻叶细粉(过 60 目筛) 1g 置索氏提取器中, 加氯仿 50 mL, 提取至近无色, 弃去氯仿液, 挥干溶剂, 加甲醇 80 mL, 提取至无色 (4 h), 提取液放冷, 过滤, 蒸馏水定容至 100 mL, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 过滤即得。精密吸取 20 μL 进样, 样品及对照品的色谱图见图 1。

表 1 重复性试验结果 (n = 6)

Tab 1 Result of repeatability (n = 6)

取量 (g)	峰面积	含量 (%)	RSD (%)
1.014	1160210	0.691	1.02
1.004	1213510	0.704	
1.003	1209224	0.702	
1.001	1168171	0.705	
1.004	1148929	0.691	
1.002	1176927	0.707	

表 2 金丝桃苷的回收率测定结果 (n = 6)

Tab 2 Recovery of hyperoside determination (n = 6)

No	sample (g)	hyperoside content (mg)	added (mg)	detected (mg)	recovery (%)	average (%)	RSD (%)
1	0.5061	3.117	2.8	5.953	101.4	101.5	2.1
2	0.5062	3.118	2.8	5.912	100.1		
3	0.5059	3.116	3.5	6.714	103.4		
4	0.5061	3.117	3.5	6.618	100.4		
5	0.5063	3.119	4.2	7.447	104.5		
6	0.5058	3.115	4.2	7.269	98.9		

点法计算含量,每个样品含量为平行测定 3 次所得平均值 ( $n=3$ )。结果见下表 3。

表 3 各产地批次的罗布麻叶中金丝桃苷含量测定结果

Tab 3 Determination results of hyperoside in samples

品名	产地	批号	含量 (%)	平均含量 (%)	RSD %
红麻叶	山西运城	040811	0.70	0.71	12.5
	山西运城	031009	0.66		
	山西运城	030812	0.60		
	陕西	0406031	0.71		
	陕西	040824	0.68		
	河北	040930	0.73		
	河北	04010201	0.91		
	广东	040922	0.71		
大叶白麻叶	山西运城	030902	0.50	0.48	17.0
	广西	040703	0.39		
	青海格尔木	040922	0.55		
白麻叶	青海格尔木	040920	0.34	0.38	14.8
	青海格尔木	041010	0.42		

### 3 讨论

3.1 在选择检测波长时,我们取对照品溶液,进行全波长扫描,测得金丝桃苷最大吸收波长为 256 nm 和 360 nm。经试验研究,表明 360 nm 处测得供试品溶液干扰较少,且分离效果良好,故本试验选用 360 nm 为测定波长。

3.2 试验中我们发现金丝桃苷受温度影响较大,同 1 d 的分析中,由于室温不同,其保留时间会有 2~3 min 的变化。所以在试验中使用柱温箱恒温在 30℃,使其保留时间保持稳定。

3.3 对于提取时间考察了索氏提取 2, 3, 4, 5 h,从考察结果看出,随提取时间延长,含量逐渐升高,4 h 时最高,继续提取含量下降(可能由于部分黄酮苷类被破坏),故确定提取时间

为 4 h。

3.4 经对方法耐用性进行了考察,使用 Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱(其他条件同前),结果金丝桃苷色谱峰对称(1.00~1.03),理论塔板数按金丝桃苷计不小于 5 000,重复性良好,5 次连续进样峰面积 RSD=1.2%。

3.5 天然植物中的金丝桃苷已经证明具有明显的降血脂<sup>[1]</sup>、抗心肌缺血<sup>[2]</sup>、对缺氧缺糖引起的脑损伤的保护<sup>[2]</sup>等多种作用。本实验首次对罗布麻叶中金丝桃苷进行高效液相定量研究,建立了含量测定方法<sup>[3]</sup>,尽量体现指标成分的有效性,方法快速简便,准确可靠,可以作为罗布麻叶药材和相关制剂的质量标准。

3.6 本实验对不同产地和种属的罗布麻叶比较发现两属之间金丝桃苷含量有明显差异。罗布麻属罗布麻叶金丝桃苷含量平均为 0.71%,远高于白麻属两种(0.48%和 0.38%),提示金丝桃苷的含量可能在一定程度上能够作为一种区分罗布麻叶正品和混淆品的依据,但是这一点的确证尚需要收集更大量样本加以深入研究。对于同一品种,以红麻叶为例,不同产地之间差异较大,河北产的最高达到 0.91%,而山西产(030812)仅为 0.60%,以这一点看以河北产的罗布麻叶质量较优,山西运城产的略差。综上,罗布麻叶中金丝桃苷的含量在一定程度上能够反映药材的真伪优劣,可作为质量控制的指标,本实验结果为临床合理用药、进一步开发利用罗布麻叶提供了实验依据。

### 参考文献

- [1] 李贵海,孙敬勇,张希林,等.山楂降血脂有效成分的实验研究[J].中草药,2002,33(1):50
- [2] 辛勤,陈思维.金丝桃苷对组织器官缺血性损伤保护作用的研究进展[J].中药材,2003,26(3):213
- [3] 万德光,裴瑾,严铸云.几种金丝桃属药用植物的金丝桃苷含量测定[J].中药材,2004,27(6):397

收稿日期:2005-04-26