

HPLC-UV法测定天山花楸中金丝桃苷和芦丁的含量

李景庄¹, 胡君萍², 杨建华^{3*}, 王小青²

(1. 新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830054 2. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054

3. 新疆医科大学附属肿瘤医院, 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的: 建立同时测定维吾尔药材天山花楸中金丝桃苷和芦丁含量的 RP-HPLC 分析方法。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Symmetry shield RP8 (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 150 mm); 流动相为甲醇-0.05% 磷酸(三乙胺调 pH 至 3.0) (40:60), 柱温 40 $^{\circ}$ C, 流速 1.3 mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长 360 nm。结果: 金丝桃苷和芦丁分别在 20.0~100.0 ng 和 15.8~79.0 ng 范围内, 进样量与色谱峰积分面积呈良好线性关系, 相关系数分别为 0.9997 和 0.9999, 平均回收率 ($n=6$) 分别为 102.3% 和 100.5%。结论: 应用本法测定金丝桃苷和芦丁的含量稳定可靠, 重复性好, 可用于天山花楸药材的质量控制。

关键词: 天山花楸; 金丝桃苷; 芦丁; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)02-0310-03

RP-HPLC determination of hyperoside and rutin in *Sorbus tianshanica* Rupr

LI Jin-zhuang¹, HU Jun-ping², YANG Jian-hua^{2,3*}, WANG Xiao-qing²

(1. The first Affiliated Hospital Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

2. Pharmacy College Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

3. The Affiliated Tumor Hospital Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract Objective To establish RP-HPLC method for the determination of hyperoside and rutin in *Sorbus tianshanica* Rupr from Xinjiang. **Method** Symmetry Shield RP8 column (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m) was eluted with mobile phase consisted of methanol and 0.05% aqueous phosphoric acid (40:60, adjusted to pH 3.0 with triethylamine) at the column temperature 30 $^{\circ}$ C. The flow rate was 1.3 mL $\cdot$ min⁻¹ and detective wavelength was 360 nm.

Results Hyperoside was proved to be linear in the range of 20.0–100.0 ng with a regression coefficient of 0.9997, the average recovery was 102.3%; rutin was proved to be linear in the range of 15.8–79.0 ng with a regression coefficient of 0.9999, the average recovery was 100.5%. **Conclusion** The method is proved to be quick, simple and high sensitive.

Key words *Sorbus tianshanica* Rupr; hyperoside; rutin; RP-HPLC

天山花楸 (*Sorbus tianshanica* Rupr) 系蔷薇科花楸属植物, 含有多种活性成分, 主要包括三萜类、黄酮类、生氰苷类、植物甾醇类等, 具有抗氧化、抗癌、抗辐射、止咳平喘等药理作用^[1]。天山花楸主要分布于新疆, 具有清热利肺、补脾生津、止咳平喘等功效。它是维吾尔族和哈萨克族民间习用的一种药材, 常以果实、嫩枝叶和茎皮入药, 临床上主要用于肺结核、哮喘、咳嗽、胃炎、胃疼等症的治疗。金丝桃苷和芦丁均为黄酮类化合物, 具有多种生物活性,

在以前的研究工作中我们曾采用 RP-HPLC 法同时测定了新疆贯叶连翘中芦丁和金丝桃苷的含量^[2]。新疆有着丰富的天山花楸资源, 但研究却相对滞后, 为合理开发利用植物药材资源及控制生药和制剂的质量, 本课题组以金丝桃苷和芦丁作为指标成分, 采用 HPLC 法同时测定了它们在天山花楸中的含量, 为该药材的质量控制和评价提供参考分析资料。

* 通讯作者 Tel: (0991) 7819169 E-mail: yjh-yf@163.com

1 仪器与试药

Waters 2690型高效液相色谱仪 (带自动进样器), Waters 2487型可见紫外检测器, Waters Millennium 32色谱工作站, BS110S电子天平 (德国 Sartorius), SB3200超声振荡仪 (上海 Branson)。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

对照品 金丝桃苷 (1521 - 200202) 和 芦丁 (100080 - 200306) 均由中国药品生物制品检定所提供, 天山花楸采于新疆乌鲁木齐市近郊天山南麓, 由新疆医科大学药学院天然药物化学教研室堵年生教授鉴定。

2 色谱条件

色谱柱: Symmetry shield RP8 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 150 mm); 流动相: 甲醇 - 0.05% 磷酸 (三乙胺调 pH 至 3.0) (40: 60); 流速 1.3 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 检测波长 360 nm, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。在本色谱条件下, 天山花楸药材中 金丝桃苷 和 芦丁 的色谱峰与其他组分峰均得到较好分离, 结果见图 1。

3 溶液的配制

3.1 对照品溶液 精密称取 金丝桃苷 对照品 1 mg 芦丁 对照品 15 mg 分别置于 10 mL 量瓶中, 加少量甲醇超声溶解后定容, 摇匀。分别吸取上述溶液适量, 加甲醇稀释成 20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 15.8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 金丝桃苷 和 芦丁 对照溶液, 摇匀, 即得。

3.2 供试品溶液 将天山花楸药材干燥、粉碎, 过 40 目筛, 得供试药材样品。精密称取药材样品 0.25 g 置于 10 mL 量瓶中, 加适量甲醇浸泡 1 h 然后超声提取 30 min, 再加甲醇至刻度, 摇匀, 上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

4 方法与结果

4.1 线性关系考察 分别精密吸取 金丝桃苷 和 芦丁 对照品溶液各 1 2 3 4 5 μL , 进样, 以进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 得 金丝桃苷 和 芦丁 的回归方程分别为:

$$A = 7856.93C + 4593.4 \quad r = 0.9997 (n = 5)$$

$$A = 1124.6C + 148.3 \quad r = 0.9999 (n = 5)$$

表明 金丝桃苷 和 芦丁 进样量分别在 20.0 ~ 100.0 ng 和 15.8 ~ 79.0 ng 范围内线性关系良好。

4.2 精密度试验 分别吸取 金丝桃苷 和 芦丁 对照品溶液各 4 μL , 重复进样 5 次, 按峰面积计算, 金丝桃苷 和 芦丁 的 RSD 分别为 0.8% 和 0.6%。

4.3 稳定性试验 取天山花楸 0.25 g 按“样品测定”项下方法制备样品溶液, 分别于 0 2 4 6 8 h 进样, 每次 4 μL , 测定峰面积, 结果表明样品溶液在 8

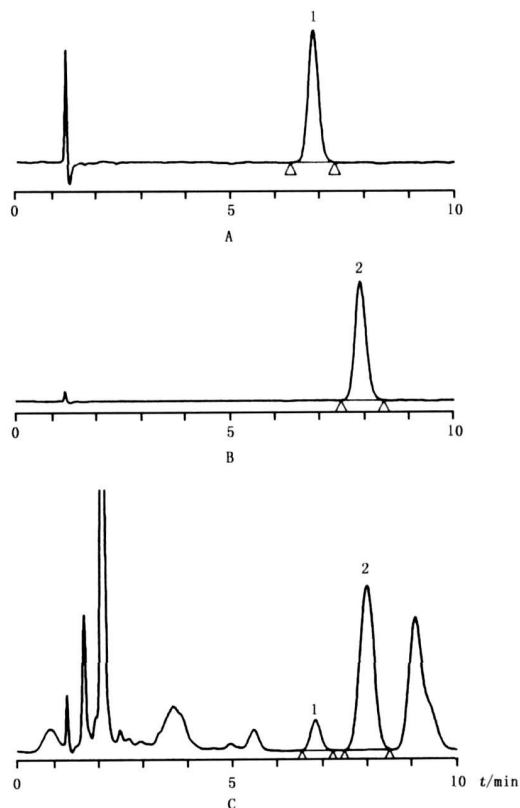


图 1 对照品及样品色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substances and sample

A. 金丝桃苷对照品 (hyperoside reference substance) B. 芦丁对照品 (rutin reference substance) C. 样品 (sample)

1. 金丝桃苷 (hyperoside) 2. 芦丁 (rutin)

h 内稳定, RSD 为 1.2%。

4.4 重复性试验 取天山花楸药材样品 0.25 g 按“样品测定”项下方法分别制备 5 份样品, 在该色谱条件下测定含量, 金丝桃苷 和 芦丁 的平均含量分别为 0.0453%, 0.0407%; RSD 分别为 2.3%, 1.8%。表明方法重复性较好。

4.5 加样回收率试验 分别取已知含量的天山花楸药材样品 0.125 g 共 6 份, 精密称定, 分别置 10 mL 量瓶中, 2 份为一组, 每组分别加入 金丝桃苷 和 芦丁 对照品各 25 50 75 μg 加甲醇至刻度, 超声提取 30 min, 上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 进样 4 μL 测定。金丝桃苷 和 芦丁 的平均回收率分别为 102.3%, 100.5%; RSD 分别为 1.3%, 2.1%。

4.6 样品测定 精密称取天山花楸样品 0.25 g 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声提取 30 min, 上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 进样 4 μL 测定。结果样品中 金丝桃苷 和 芦丁 的平均含量 ($n = 6$) 分别为 0.0445%, 0.0411%; RSD 分别为 0.7%, 1.5%。

5 讨论

5.1 黄酮类化合物是天山花楸中重要的活性成分, 金丝桃苷具有凉血止血、清热解毒等活性, 芦丁具有抗病毒和抗炎等活性。目前尚未见有同时测定天山花楸中两组分的文献报道。本文采用 HPLC-UV 法同时测定金丝桃苷和芦丁的含量, 方法简便易行, 适用于控制和评价天山花楸的质量。

5.2 金丝桃苷和芦丁在 360 nm 均有较强吸收, 故选择 360 nm 为测定波长, 在该波长测定时, 色谱峰对称, 干扰少。

5.3 传统方法以天山花楸嫩枝、果实和皮入药, 其有效成分的含量受采药时间的影响很大。为有效开发新疆丰富的天山花楸药用资源, 本课题组对该药

材不同采收期有效成分的含量变化也进行了考察, 将另文报道。

参考文献

1 YU M ing (于明), LIX ian (李铤). Review on research of the chemical constituents and pharmacological activities of *Sorbus* L (花楸属植物化学成分药理作用及其研究进展). *J Liaoning Coll Tradit Chin Med* (辽宁中医学院学报), 2004, 6 (5): 364

2 HU Jun- ping (胡君萍), YANG Jian- hua (杨建华), ZHANG Xu- an (张烜), *et al* RP- HPLC determination of rutin and hyperoside in *Hypericum perforatum* L. from Xinjiang (反相高效液相色谱法同时测定新疆贯叶连翘中芦丁和金丝桃苷的含量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23 (5): 363

(本文于 2008 年 12 月 12 日收到)

中国药学会主办期刊 10 篇论文
荣获第六届中国科协期刊优秀学术论文称号

中国科协 2009 年 1 月 4 日公布了“第六届中国科协期刊优秀学术论文评选”活动结果。此次评选共选出优秀学术论文 471 篇, 其中一等奖 50 篇, 二等奖 150 篇, 三等奖 271 篇。经中国药学会推荐, 学会主办期刊有 10 篇论文获奖。其中一等奖 1 篇、二等奖 4 篇、三等奖 5 篇。

第六届中国科协期刊优秀学术论文评选中国药学会主办期刊论文获奖名单如下:

序号	奖项	主要作者	刊载期刊
1	一等奖	李荣坡、周伟澄、周伟良	药学报
2	二等奖	刘丽、赵玲、李雅莉等	中国药杂志
3	二等奖	白进发、刘志强、再帕尔·阿不力孜等	药学报
4	二等奖	王阶、郭丽丽、王永炎	中国中药杂志
5	二等奖	王素军、李晓天、王广基等	中国新药杂志
6	三等奖	葛盛芳、孟夏、赵毅等	中国药杂志
7	三等奖	李佐刚、李晶、闻锦等	药物分析杂志
8	三等奖	代现平、李行舟、郑志兵等	中国药物化学杂志
9	三等奖	赵明镜、王硕仁、李敏等	中国中药杂志
10	三等奖	单爱莲、权菊香、魏敏吉等	中国临床药理学杂志

详情请浏览中国药学会网站: [www. cpa. org. cn](http://www.cpa.org.cn)