

HPLC 测定了哥王药材中的槲皮苷含量

王姿媛^{1*}, 胡惠兰²

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 2. 广州市中医医院, 广州 510130)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱测定了哥王药材中槲皮苷含量的方法。方法: Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.5% 磷酸水溶液 (25:75), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为室温, 检测波长 254 nm。结果: 槲皮苷在 0.112 ~ 1.008 μg 与峰面积呈现良好的线性关系 ($r=0.999\ 1$), 回收率为 101.38%, RSD 2.78%; 样品溶液在 24 h 内稳定。结论: 该测定方法快速、简便、准确。

[关键词] 了哥王; 槲皮苷; HPLC

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0127-03

[doi] 10.11653/zgsyfyjxzz2013070127

Determination of Quercitrin in Radix *Wikstroemia indicae* by HPLC

WANG Zi-yuan^{1*}, HU Hui-lan²

(1. The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Guangzhou Chinese Medicine Hospital, Guangzhou 510130, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of quercitrin in Radix *Wikstroemia indicae*. **Method:** HPLC was performed on Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at room temperature; the mobile phase consisted of acetonitrile-0.5% phosphoric acid solution (25:75) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was set at 254 nm. **Result:** The calibration curves of quercitrin were linear in the range of 0.112-1.008 μg ($r=0.999\ 1$). The average recovery of quercitrin was 101.38% (RSD 2.78%), and the properties of sample solution kept steady within 24 hours. **Conclusion:** This method is simple, rapid, accurate.

[Key words] Radix *Wikstroemia indicae*; quercitrin; HPLC

了哥王又名南岭蕘花、山雁皮、雀仔麻、地棉皮、狗信药、九信菜^[1]、毒除根、鱼胆根、红赤七^[2], 来源于瑞香科植物了哥王 *Wikstroemia indica* (Linnaeus) C. A. Meyer 的干燥根或根皮, 功能清热解毒、散结逐水, 用于肺热咳嗽、疔腮、瘰疬、风湿痹痛、疮疖肿毒、水肿腹胀等症^[1]。有研究报道指出其含有黄酮、皂苷、树脂酸、甾醇等化学成分, 其中黄酮类化合物槲皮苷为其主要有效成分之一^[3-6]。现代药理研究表

明, 槲皮苷具有抗氧化^[7]、抗炎^[8]、护肝^[9]等作用。然而, 目前关于了哥王的质量标准研究的报道较少, 国内仅有少量关于对了哥王中西瑞香素^[10-13]、莞花素^[14]的含量测定的报道。因此本文建立了哥王药材中槲皮苷含量的 HPLC 测定方法, 旨在为进一步完善了哥王的质量评价体系提供参考。

1 材料

LC2000 高效液相色谱仪 (上海天美科技仪器有限公司), LC2030 紫外检测器, HITACHI L-2200 自动进样器, HITACHI L-2130 PUMP, N2010 色谱工作站, Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), LIBROR AEG-220 型电子分析天平, CQ-200 型超声波清洗器 (上海音波声电科技有限公司), DF-20 型

[收稿日期] 20120822(001)

[通讯作者] *王姿媛, 硕士, 副主任药师, 从事医院药学研究, Tel: 020-33398088, E-mail: wzyuan2004@163.com

流水式高速中药粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司)。

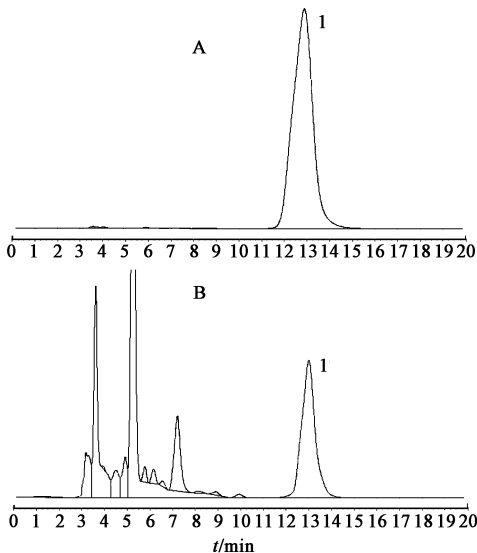
槲皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 111538-201110),了哥王样品(市场上收集的 3 批流通药材饮片),高效液相色谱用乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取槲皮苷对照品 10.00 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得 $400\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的槲皮苷对照品储备液。精密吸取槲皮苷对照品储备液 1.4 mL,置于 10 mL 棕色容量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,即得 $56\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的槲皮苷对照品溶液。

2.2 供试品溶液制备 取了哥王粉末(过 60 目筛)0.5 g,精密称定。置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 25 mL 甲醇,称定质量,超声处理 30 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 色谱条件与系统适应性试验 Kromasil C_{18} 色谱柱($4.6\text{mm}\times 250\text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$),流动相乙腈-0.5% 磷酸水溶液(25:75),流速 $1.0\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温为室温,检测波长 254 nm,进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。理论塔板数按槲皮苷计应不低于 3 000。结果表明,在上述色谱条件下,槲皮苷对照品溶液的色谱峰分离度良好。槲皮苷对照品及供试品色谱图见图 1。



A. 对照品;B. 了哥王;1. 槲皮苷

图 1 槲皮苷对照品及了哥王 HPLC

2.4 线性关系考察 分别精密吸取槲皮苷对照品溶液 2,6,10,14,18 μL 进样,按上述色谱条件测定

峰面积,以测得峰面积为纵坐标,对照品进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 2\ 206\ 641.518X - 96\ 614.25$ ($r = 0.999\ 1$),表明槲皮苷对照品在进样量为 $0.112 \sim 1.008\ \mu\text{g}$ 与峰面积有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取槲皮苷对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$,按上述色谱条件重复进样 5 次,结果槲皮苷峰面积的 RSD 0.78%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0,4,8,12,24 h 精密吸取 $10\ \mu\text{L}$ 进样测定,记录峰面积,结果槲皮苷峰面积的 RSD 1.05%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 称取同一了哥王药材粉末 5 份,各 0.5 g,精密称定。按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取 $10\ \mu\text{L}$,按上述色谱条件测定槲皮苷含量。结果槲皮苷的平均含量为 $1.524\ 4\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 1.33% ($n = 5$),表明该方法重现性良好。

2.8 加样回收率试验 取同一了哥王药材粉末 6 份,各 0.125 g,精密称定。分别加入 $400\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 槲皮苷对照品 0.49 mL,挥干溶剂,精密加入 25 mL 甲醇,称定质量,超声处理 30 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,分别精密吸取续滤液 $10\ \mu\text{L}$ 按上述色谱条件测定,计算加样回收率,见表 1。

表 1 槲皮苷加样回收率试验

取样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得 总量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.125 3	0.191 0	0.196	0.388 5	100.77		
0.124 7	0.190 0	0.196	0.389 5	101.75		
0.124 9	0.190 3	0.196	0.394 5	104.14		
0.124 5	0.189 7	0.196	0.382 1	98.13	101.38	2.78
0.124 8	0.190 2	0.196	0.388 3	98.55		
0.125 2	0.190 8	0.196	0.396 5	104.94		

2.9 样品含量测定 取 3 批不同产地的了哥王市售药材粉末(过 60 目筛)各 0.5 g,精密称定。按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 $10\ \mu\text{L}$ 进样,按上述色谱条件测定,计算,结果见表 2。

3 讨论

考察超声提取和加热回流提取槲皮苷的 2 种方法,所测得的含量基本一致,故选用了操作简便的超

表 2 样品槲皮素含量测定

No.	产地	来源	批号	槲皮苷含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
1	广东广州	广州南北行中药饮片有限公司	090302E112	1.524 4	1.33
2	广东霞山	广东众康中药饮片有限公司	20110811	1.280 7	1.51
3	广西玉林	广西玉林华济中药厂	11010078	1.391 7	1.84

声提取法;同时也考察了超声处理 10,20,30,40,50 min 的槲皮苷提取效果,发现超声 30 min 已能将了哥王药材中的槲皮苷提取完全。综上分析,最后确定供试品溶液的制备方法为甲醇超声处理 30 min。

实验中考察槲皮苷的最佳检测波长和最佳流动相。取槲皮苷对照品溶液在 200~400 nm 进行扫描,结果显示槲皮苷在 254 nm 处有最大吸收,故确定检测波长为 254 nm。参照《中国药典》2010 年版一部里有关槲皮苷含量测定方法,以乙腈-0.5% 磷酸水溶液为流动相,考察多个比例,最后确定乙腈-0.5% 磷酸(25:75)的比例最为为适合。

共考察了广东广州、广东霞山以及广西玉林 3 个不同产地的了哥王市售药材样品的槲皮苷含量,结果显示了哥王药材的槲皮苷含量在 1.28~1.52%,不同产地的了哥王药材中所含的槲皮苷含量差异不大。本实验所建立的 HPLC 含量测定方法快速、简便、准确,可为日后制定了哥王药材的质量标准,进一步完善了哥王的质量评价体系提供参考。

[参考文献]

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第 1 册[M]. 广州: 广东科技出版社, 2004:6.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006:70.
- [3] 杨雷军,李爱琦,侯亚琴. 了哥王化学成分及临床应用研究进展[J]. 畜牧兽医科技信息, 2011, (9):8.
- [4] 陈定双,黄运东,王定勇. 了哥王茎皮化学成分研究[J]. 亚热带植物科学,2008,37(4):26.

- [5] 张鑫,了哥王的化学成分及镇痛抗炎活性研究[D]. 广州:广东药学院,2011.
- [6] 耿立冬,张村,肖永庆. 了哥王化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(10):817.
- [7] Chou Shu-Chen, Su Chung-Ren, Ku Yuh-Chi, et al. The constituents and their bioactivities of *Houttuynia cordata* [J]. Pharm Society of Japan, 2009, 57(11):1227.
- [8] 李钦,郑晓亮,陈爱君,等. 槲皮苷防治溃疡性结肠炎的药学研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2009,26(3):180.
- [9] 刘丽,侯立强,满莹. 槲皮苷对扑热息痛诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用研究[J]. 药物与临床,2007,45(10):98.
- [10] 沈沫凡,李玮,王建科,等. HPLC 法测定了哥王药材不同药用部位西瑞香素的含量[J]. 中国民族医药杂志,2012,(8):65.
- [11] 喻文进,夏武云,肖玥,等. 正交试验法优选了哥王中西瑞香素的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(5):12.
- [12] 刘艳,李玮,周汉华,等. 了哥王药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国民族民间医药,2011,(1):57.
- [13] 李艳敏,姜建国,曾治平. 了哥王中西瑞香素含量的 HPLC 法测定[J]. 现代食品科技,2009,25(5):563.
- [14] 江敏,王丽. 了哥王中荜花素含量测定技术[J]. 健康必读, 下半年,2011,(3):300.

[责任编辑 顾雪竹]