

HPLC 测定滇白珠中槲皮苷的含量

宋志钊, 刘元*

(广西中医药研究院, 南宁 530022)

[摘要] 目的: 建立滇白珠中槲皮苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以 Appollo-C₁₈ 色谱柱为分离柱, 以乙腈-0.1% 磷酸(23:77)为流动相, 254 nm 为检测波长, 柱温为室温。结果: 槲皮苷在 0.027 5~0.88 μg 峰面积与其质量浓度呈良好线性关系($r=1.00$), 平均回收率为 99.0%, RSD 2.37% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为该药材含量测定方法。

[关键词] 滇白珠; 槲皮苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0099-03

Determination of Quercitrin in *Gaultheriae leucocarpa* by HPLC

SONG Zhi-zhao, LIU Yuan*

(Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To assay the content of quercitrin in *Gaultheriae leucocarpa* by HPLC. **Method:** The Appollo-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used, the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (23:77), the detection wave length was at 254 nm and the column temperature was at room temperature. **Result:** Linearity of quercitrin was good at 0.027 5-0.88 μg ($r=1.00$). The average recovery of quercitrin was 99.0% with RSD less than 2.37% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate and repeatable, which can be applied in determination of quercitrin in *G. leucocarpa*.

[Key words] *Gaultheriae leucocarpa*; quercitrin; HPLC

滇白珠, 别名透骨草、满山香、上山虎、透骨消、小透骨草, 系杜鹃花科白玉珠属植物滇白珠 *Gaultheria leucocarpa* Bl. var. *yunnanensis* (Franch.) T. Z. Hsu 的全株。主要分布于我国广西、四川、云南、陕西、贵州等省区, 具有祛风除湿、散寒止痛、活血通络、化痰止咳的功效。主治风湿痹痛、胃寒疼痛、跌打损伤、咳嗽多痰等。全株含挥发油, 油中主

要成分是水杨酸甲酯^[1-2]; 含有熊果酸、香草酸、槲皮苷及正三十二烷酸、东莨菪素、棕榈酸、木脂素苷类化合物^[3-6]。现参考《中国药典》2010 年版一部和相关文献^[7-8], 测定滇白珠中槲皮苷的含量。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 紫外检测仪, 威玛龙色谱工作站, Appollo-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), KQ-100VDB 型双频数控超声清洗仪。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余所用试剂均为分析纯。槲皮苷对照品, 中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号 111538-200403。滇白珠药材 6 批, 20101115 (马山)、20110204 (金秀)、20110418 (大明山)、20110428 (靖西)、20110509 (金秀) 由本院中药所黄云峰同志采集, 20110721, 购自金秀县药材市场。以上样品均由本院中药所鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Appollo-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250

[收稿日期] 20111115(002)

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻 0992003A-22); 《广西壮族自治区壮药质量标准(第二卷)》标准研究项目(MZY2010053); 广西卫生厅项目(z2011276)

[第一作者] 宋志钊, 研究生, 助理研究员, 从事药材及制剂质量标准研究, Tel: 0771-5869102, E-mail: songzhizhao1978@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 刘元, 大专, 高级实验师, 从事新药开发研究, Tel: 0771-5869102, E-mail: liuyuan0821@vip.163.com

mm, 5 μm), 检测波长为 254 nm, 流动相乙腈-0.1% 磷酸(23:77), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为室温。理论塔板数按槲皮苷峰计算不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取槲皮苷对照品 11.0 mg, 置 100 mL 量瓶中用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 110 mg·L⁻¹ 对照品溶液, 备用。精密吸取上述对照品溶液 2.0 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得 (22.0 mg·L⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 取本品药材粉末(过 40 目筛)0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.4 标准曲线及线性范围考察 精密称取槲皮苷对照品 11.0 mg, 置 100 mL 量瓶中用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 110 mg·L⁻¹ 对照品溶液, 备用。分别精密吸取 110 mg·L⁻¹ 槲皮苷对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 10 μL, 测定。以槲皮苷对照品进样量 μg 为横坐标(X), 峰面积积分为纵坐标(Y) 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 1.49 \times 10^6 X + 1.70 \times 10^4$ ($r = 1.00$)。结果表明, 槲皮苷进样量在 0.027 5 ~ 0.88 μg 与峰面积积分值线性关系。

2.5 精密密度试验 分别吸取同一供试品溶液, 进样 6 次, 依次测定, 即得。测得供试品 RSD 1.51%。

2.6 重复性试验 取同一批号(20110418)样品, 按供试品溶液制备方法制备 6 份, 分别进样, 测定, 即得。结果测得槲皮苷含量为 0.410%, RSD 1.06% ($n = 6$)。表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0, 4, 8, 12, 16 h 进行测定。结果供试品中槲皮苷含量的 RSD 1.70%, 表明供试品溶液在 16 h 内保持稳定。

2.8 加样回收试验 取已测知含量(0.410%, 批号 20110418)的供试品 0.05 g, 精密称定, 精密加入槲皮苷对照品溶液(110 mg·L⁻¹)2.0 mL, 精密加入 50% 甲醇 23 mL, 按 2.3 项下的方法制备。结果槲皮苷平均回收率为 102.7%, RSD 1.65% ($n = 6$), 结果见表 1。

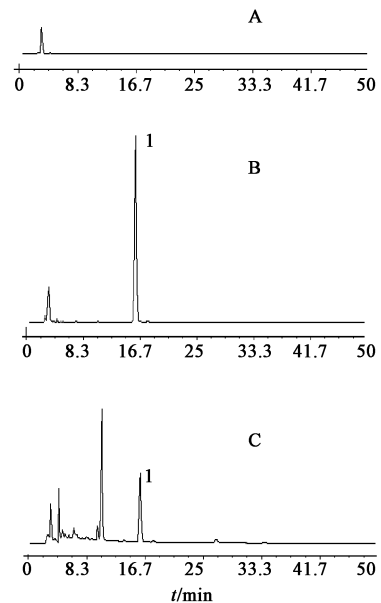
2.9 样品测定 按供试液的制备及检测方法, 测定 6 批滇白珠药材中槲皮苷含量, 结果见表 2, 图 1。6 批滇白珠药材按干燥品计算, 槲皮苷含量在 0.36% ~ 0.48%。

表 1 槲皮苷加样回收试验 ($n = 6$)

样品中 含量/μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
207.5	220.0	438.1	104.8	102.7	1.65
205.8	220.0	427.0	100.5		
209.5	220.0	435.8	102.9		
207.0	220.0	429.0	100.9		
209.9	220.0	438.1	103.7		
205.4	220.0	433.4	103.6		

表 2 6 批滇白珠药材中槲皮苷测定 %

样品批号	产地	含量		质量分数
		1	2	
20101115	马山	0.36	0.37	0.36
20110204	金秀	0.45	0.47	0.46
20110418	大明山	0.46	0.45	0.46
20110428	那坡	0.36	0.36	0.36
20110509	金秀	0.44	0.44	0.44
20110721	金秀市售	0.48	0.47	0.48



A. 甲醇; B. 对照品; C. 滇白珠药材; 1. 槲皮苷

图 1 滇白珠中槲皮苷色谱

3 讨论

对槲皮苷对照品溶液进行紫外扫描, 结果其在 254 nm 处有最大吸收, 故确定检测波长为 254 nm。参照《中国药典》2005 年版一部里有关槲皮苷含量测定方法, 以乙腈-0.1% 磷酸为流动相, 考察多个比例, 最后确定乙腈-0.1% 磷酸(23:77)的比例较为适合。

返魂草药材的 HPLC 指纹图谱研究

马鸿雁^{1,2}, 杨莉¹, 王长虹¹, 王峥涛^{1*}

(1. 上海中医药大学中药研究所 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201203;
2. 广东药学院中药学院, 广州 510000)

[摘要] 目的: 研究返魂草药材的 HPLC 指纹图谱方法, 为科学评价该药材质量提供了新方法。方法: 利用 HPLC 方法, 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 流动相为乙腈-0.1% 三氟乙酸溶剂系统, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm。对不同产地的返魂草药材进行研究, 采用药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 对指纹图谱进行分析。结果: 得到分离度, 重复性均较好的返魂草药材 HPLC-UV 指纹图谱, 标定 14 个共有峰, 11 批返魂草药材的相似度均 > 0.900。结论: 该方法简便可靠, 重复性好, 可用于返魂草药材的质量控制。

[关键词] 返魂草; 高效液相色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0101-04

Studies on HPLC Fingerprint of *Senecio cannabinifolius*

MA Hong-yan^{1,2}, YANG Li¹, WANG Chang-hong¹, WANG Zheng-tao^{1*}

(1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicine Ministry of Education, Shanghai
Univeristiy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510000, China)

[Abstract] **Objective:** The chromatographic fingerprint of *Senecio cannabinifolius* was established, which created a new method for evaluating and controlling the quality. **Method:** HPLC analysis was carried out on Agilent

[收稿日期] 20111213(018)

[基金项目] 上海市科学技术委员会择优委托项目(09dz1974302); 中药现代化专项项目(10DZ1975900)

[通讯作者] * 王峥涛, 博士, 教授, 从事中药的物质基础及质量评价研究, Tel: 021-51322507, Fax: 021-51322519, E-mail: wangzht@hotmail.com

采用超声处理 30 min、加热回流 1 h、索氏提取 2 h 进行提取方法考察, 超声提取含量测定结果较低, 加热回流与索氏提取结果相差不大, 但加热回流更简便、快捷, 故采用加热回流法。采用甲醇、水、50% 甲醇作提取溶剂进行考察, 用 50% 甲醇提取所得含量比高, 且杂质较少, 故采用 50% 甲醇作为提取溶剂。以加热回流 30 min, 1, 2 h, 进行提取时间考察, 加热回流 30 min, 测得结果较低, 加热回流 1, 2 h, 两者无明显差别, 故加热回流时间定为 1 h。

[参考文献]

[1] 陈素珍. 滇白株挥发油化学成分的研究[J]. 中草药, 1990, 21(6): 42.

[2] 马学毅, 魏涛, 翟建军, 等. 贵阳滇白株精油化学成分

研究[J]. 分析测试通报, 1992, 11(1): 63.

[3] 马小军, 杜程芳, 郑俊华, 等. 滇白株地上部分化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(12): 844.

[4] 张治针, 果德安, 李长龄, 等. 滇白株化学成分的研究(I)[J]. 中草药, 1998, 29(8): 508.

[5] 张治针, 小池一男, 果德安, 等. 滇白株化学成分的研究(II)[J]. 中草药, 1999, 30(3): 167.

[6] 张治针, 果德安, 李长龄, 等. 滇白株木脂素苷的研究[J]. 药学学报, 1999, 34(2): 128.

[7] 中国药典. 一部[S]. 2010: 135.

[8] 宋志钊, 刘元, 李文琪. HPLC 法测定亮叶杨桐叶中槲皮苷的含量[J]. 中国民族民间医药杂志, 2011, 20(5): 27.

[责任编辑 顾雪竹]