

火棘不同药用部位中槲皮素含量的比较

甘秀海¹, 赵杨², 周欣², 赵超^{2*}, 梁志远¹

(1. 贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵阳 550018;

2. 贵州师范大学天然药物质量控制研究中心, 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 建立反相高效液相色谱法测定火棘中槲皮素含量的方法, 并比较火棘不同部位中槲皮素的含量。方法: 采用90%甲醇-25%盐酸(4:1)为溶剂提取样品, 利用反相高效液相色谱法测定火棘不同部位样品中槲皮素的含量。色谱柱Hypersil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1%磷酸水溶液(40:60), 流速1.0 mL·min⁻¹, 检测波长360 nm, 柱温25 ℃。结果: 槲皮素在0.048 5~1.552 0 μg线性关系良好, 平均回收率为96.18%。结论: 火棘不同部位中槲皮素的含量差异较大。

[关键词] 火棘; 反相高效液相色谱; 黄酮类化合物; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0100-03

Comparison of the Contents of Quercetin in Various Medicinal Parts of *Pyracantha fortuneana*

GAN Xiu-hai¹, ZHAO Yang², ZHOU Xin², ZHAO Chao^{2*}, LIANG Zhi-yuan¹

(1. The School of Chemistry and Life Science, Guizhou Normal College, Guiyang 550018, China;

2. The Research Center for Quality Control of Natural Medicine, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To established an RP-HPLC method for determination of quercetin in *Pyracantha fortuneana* and to compare quercetin contents in different medicinal parts. **Method:** 90% methanol-25% hydrochloride aqueous solution (4:1) was used to extract quercetin and Hypersil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used to analyze quercetin content with methanol-0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phases. Flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Detection wavelength was set at 360 nm. **Result:** The standard curve of quercetin was linear in the range of 0.048 5-1.552 0 μg. The average recovery of quercetin was 98.44%. **Conclusion:** Quercetin contents in different medicinal parts of *P. fortuneana* was different.

[Key words] *Pyracantha fortuneana*; RP-HPLC; quercetin; content determination

火棘为蔷薇科火棘属植物, 异名赤阳子、救军粮、火把果等, 产于江苏、四川、贵州、云南等地。火棘不仅极具观赏价值, 而且其果实具有很高的食用

价值和药用保健价值, 也是一种重要的天然色素、果胶及饲料资源。其果实、叶和根都可药用, 火棘果提取物具有抗氧化、增强免疫力、增强体力、降血脂等作用, 具有健脾消食、收涩止痢、止痛的功效^[1-2]。关于火棘果和叶的化学成分均有报道^[3-8], 但在质量控制方面的研究未见报道。药理研究表明火棘具有明显的抗氧化和消除自由基的作用, 据推测这与其含有大量黄酮类化合物有关^[9-11], 黄酮类化合物包括槲皮素及其苷类^[4,6-7]。因此, 本文采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定火棘不同药用部位中槲皮素的含量, 为火棘药材的质量控制及资源的

[收稿日期] 20111205(001)

[基金项目] 贵州省科技创新人才团队建设项目[黔科合人才团队(2011)4008]

[第一作者] 甘秀海, 讲师, 硕士, 从事中药化学成分及质量控制研究; E-mail: gxx200719@163.com

[通讯作者] * 赵超, 副研究员, 硕士, 从事天然产物化学研究, Tel: 0851-6700494, E-mail: chaozhao@126.com

合理开发与利用提供参考。

1 仪器与试剂

Aglient1100 型高效液相色谱仪 (DAD 检测器, 自动进样器), 梅特勒-托利多 AL204 型电子分析天平, KQ-50B 型超声波清洗机, Direct-Q3 型超纯水制备系统, HH-S4 型电热恒温水浴锅。

槲皮素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 111521-200303, 供含量测定用); 火棘样品 (采自贵州师范学院后山) 经贵州师范学院化学与生命科学学院朱富寿教授鉴定为蔷薇科火棘属植物 *Pyracantha fortuneana* (Maxim.) Li 的全株。

甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil ODS 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (40:60) 为流动相, 检测波长 360 nm, 进样量 10 μL, 流速 1 g·L⁻¹, 柱温 25 °C。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品适量, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀得质量浓度为 0.194 0 g·L⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液, 置于 4 °C 冰箱, 备用。

2.2.2 样品溶液的制备 分别取火棘果实、叶、根茎药材粉末约 2.0 g, 精密称定, 置 50 mL 磨口三角瓶中加入 90% 甲醇-25% 盐酸 (4:1) 溶液 25 mL, 称定质量, 加热回流 2 h, 取出, 过滤, 挥去溶剂, 用甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 系统适应性考察 分别量取 2.2 项下对照品溶液、供试品溶液 10 μL 注入色谱仪, 记录按 2.1 项下色谱条件进行测定, 结果槲皮素峰与样品中其他成分峰能较好分离。

2.4 线性关系的考察 分别精密量取上述对照品溶液 (0.194 0 g·L⁻¹) 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 按 2.1 项下色谱条件精密进样 10 μL 测定峰面积。以进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得槲皮素回归方程为 $Y = 2\ 890.45X - 285.61$ ($r = 0.999\ 8$)。结果表明槲皮素在 0.048 5 ~ 1.552 0 μg 峰面积与进样量具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 在 2.1 项色谱条件下, 精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测得峰面积的 RSD 0.94% ($n = 6$)。结果表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 在 2.1 项色谱条件下, 精密量取

火棘果实供试品溶液 10 μL, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进行测定。供试品中槲皮素峰面积的 RSD 为 1.02% ($n = 6$)。结果表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取火棘果实样品约 2.0 g, 精密称取 6 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定槲皮素的含量。结果 RSD 为 1.62% ($n = 6$), 表明此方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称定 6 份已知含量为 0.561 2 mg·g⁻¹ 的样品约 1.0 g, 分别精密加入对照品储备液 2 mL, 按 2.2.2 项下方法制备样品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 98.44%, RSD 为 0.65%。见表 1。

表 1 槲皮素加样回收率试验 ($n = 6$)

No.	取样量 /g	原有量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	1.012 0	0.568 0	0.388 0	0.944 6	97.06	96.18	1.63
2	0.997 4	0.559 7	0.388 0	0.932 8	96.16		
3	0.989 6	0.555 4	0.388 0	0.934 8	97.78		
4	1.021 5	0.573 3	0.388 0	0.951 2	97.40		
5	1.015 4	0.569 8	0.388 0	0.933 5	93.74		
6	0.998 5	0.560 4	0.388 0	0.928 7	94.92		

2.9 样品测定 分别精密称取 3 批火棘的不同药用部位样品 (过 40 目筛) 2.0 g。按 2.2.2 项下方法制备样品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定。火棘果、叶样品中槲皮素含量测定结果见表 2。火棘根茎中无槲皮素色谱峰, 槲皮素对照品、火棘果及叶样品色谱图见图 1。

表 2 样品的含量测定 ($n = 3$)

部位	槲皮素/mg·g ⁻¹			平均含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%
	1	2	3		
火棘果	2.115 4	2.153 2	2.125 6	2.131 4	0.92
火棘叶	0.553 6	0.546 1	0.561 2	0.553 6	1.35

3 讨论

3.1 提取方法的选择 由文献 [4, 6-7] 可知火棘中除含有槲皮素之外, 还有槲皮素-3-鼠李糖苷、芦丁、芒昔、异槲皮苷; 同时文献 [8] 报道了从火棘提取物分离得到 5 个黄酮斑点。在提取方法的研究中分别考察了用乙醇、甲醇、醋酸乙酯作为提取溶剂超声、加热回流、微波及索氏提取, 但发现火棘果中槲皮素的含量均较低。后参照文献 [12-13] 的基础上分别考察了甲醇及盐酸浓度、甲醇-盐酸体积比, 超

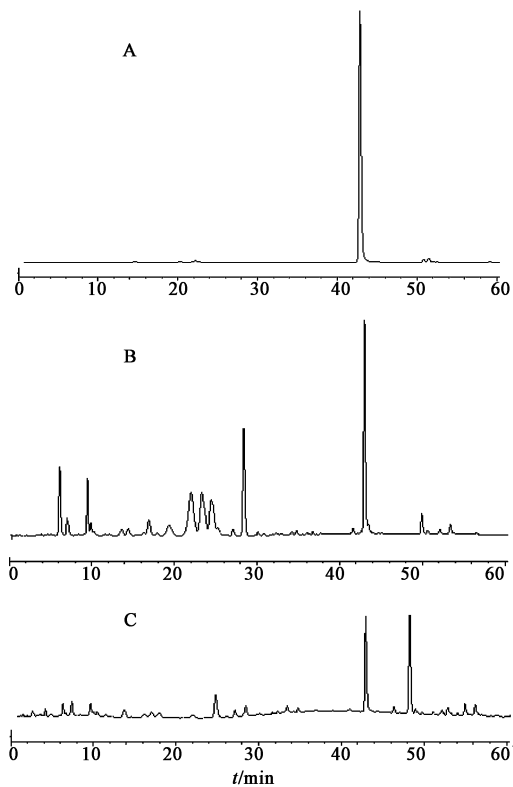


图 1 槲皮素对照品(A)与火棘样品果(B)、叶(C)的 HPLC

声、加热回流、微波、索氏提取及提取时间对槲皮素含量测定结果的影响,通过单因素及正交试验得到火棘中槲皮素的最佳提取工艺为 90% 甲醇-25% 盐酸(4:1)加热回流 2 h。

3.2 色谱条件的选择 在色谱条件考察中先采用了甲醇-0.05% 磷酸水溶液(45:55)^[12]为流动相,但槲皮素峰与杂质峰未能很好地分离且峰型对称性差;以甲醇-0.1% 三氟乙酸水溶液(65:45)^[14]为流动相,槲皮素峰的保留时间过小且与杂质峰难以分离,且对色谱柱损害较大。为了得到分离度较好的色谱峰,考察了磷酸的浓度及甲醇与磷酸水溶液的体积比对色谱峰的影响,结果发现流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液(40:60)时,可以得到分离度较好及峰型对称的色谱图。

3.3 不同部位槲皮素含量的比较 由表 2 可知,在火棘不同部位中槲皮素的含量差异较大,未检测出火棘根茎中含有槲皮素,同时测得火棘果中槲皮素的含量最高,高于叶中约 4 倍。由测定结果可推断

火棘提取物具有抗氧化等药理作用与其黄酮类化合物有关;另外火棘很容易繁殖、生长,且野生资源丰富,因此可考虑从火棘尤其是火棘果中提取槲皮素及总黄酮,进而深层次开发火棘的食用价值和药用价值。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社, 2005:1446.
- [2] 何蓉蓉,李维熙,李怡芳,等. 火棘果实提取物的美白作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 184.
- [3] 柴立,郑亚玉,谢宝忠,等. 赤阳子营养成分及保健作用研究[J]. 贵阳中医学院学报, 1988(1): 39.
- [4] 王军宪,尤晓娟,朱周才,等. 火棘化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 1990, 2(3): 63.
- [5] 王军宪,牛娟芳,尤晓娟. 秦岭产火棘果实的成分分析[J]. 西北药学杂志, 1994, 9(5): 204.
- [6] 王军宪,牛娟芳,尤晓娟. 火棘果化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 1994, 9(6): 253.
- [7] 梅兴国,万国晖,周忠强,等. 火棘果化学成分研究[J]. 中药材, 2002, 25(5): 329.
- [8] 梁淑芳,马绒利,马柏林. 火棘黄酮类化合物的提取及微乳薄层色谱分离鉴定[J]. 西北林学院学报, 2003, 18(3): 60.
- [9] 侯建军,魏文科,黄惠,等. 火棘对 D-半乳糖小鼠抗氧化作用的影响[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(8): 944.
- [10] 张海生,段玉峰,周芳,等. 火棘水溶性多糖的提取及分离纯化[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 157.
- [11] 王磊,陈庆富. 喀斯特山区不同居群火棘果实黄酮含量研究[J]. 北方园艺, 2011(19): 8.
- [12] 孟庆艳,白红进. RP-HPLC 法测定罗布麻和大花罗布麻不同部位中槲皮素的含量[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(1): 22.
- [13] 李雪玲,刘莉,钟棱,等. HPLC 测定猴耳环不同部位中没食子酸和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 95.
- [14] 赵光望,许文举. HPLC 法测定千里光中槲皮素的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(11): 1022.

[责任编辑 蔡仲德]