

# 浙产欐木叶中槲皮素和山奈酚的含量测定<sup>①</sup>

胡小玲 陈月桃 张锦晶 潘晓军<sup>②</sup>

(温州医学院药学院 浙江省温州市高教园区中心北路 3 号 325035)

**摘 要** 建立用反相高效液相色谱法同时测定浙产欐木叶中槲皮素和山奈酚含量的方法。采用 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱; 柱温: 25℃; 流动相为乙腈-0.4% 磷酸水溶液(35: 65, V/V); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 360 nm。结果表明, 槲皮素、山奈酚在 1—100 ng/μL 的范围内均具有良好的线性关系( $r_{\text{槲皮素}} = 0.9998$ ,  $r_{\text{山奈酚}} = 0.9999$ )。该法操作简单、准确, 重复性好, 可用于控制欐木叶的质量。

**关键词** 欐木叶; 槲皮素; 山奈酚; 高效液相色谱法

**中图分类号:** O 657. 7<sup>+</sup> 2

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1004-8138(2011)05-2634-04

## 1 引言

欐木是常用的民间药, 收载于《中国药典》1977 年版(一部)<sup>[1]</sup>, 来源于金缕梅科欐木属植物欐木 [*Loropetalum Chinensis* (R. Br.) Oliv.]。民间常以其根、叶和花入药, 其中, 欐木叶具有止血、止泻、止痛、生肌的功效, 用于子宫出血、腹泻、烧伤和外伤出血的治疗。初步调查资源表明, 欐木及其同属的植物红花欐木 [*Loropetalum chinensis* (R. Br.) Oliv. var. rubrum Yieh] 在浙江省均可入药用, 且野生资源非常丰富。

对欐木叶中有效成分含量的测定, 已有相关文献报道, 李雪晶等用反相高效液相色谱法测定了湖南产欐木及红花欐木叶中槲皮素的含量<sup>[2]</sup>; 游璐茜等用反相高效液相色谱法测定了福建产欐木叶中槲皮素和山奈酚等指标成分的含量<sup>[3]</sup>。现代研究认为, 槲皮素能增强毛细血管抵抗力, 减少毛细血管脆性的作用, 且对肿瘤有化学预防和治疗的双重作用, 山奈酚有着逆转肿瘤细胞多药耐药作用、对神经细胞的保护作用。

然而, 有关浙江产欐木叶有效成分含量测定的研究未见相关报道。为了开发欐木这一民间药用资源, 有效地控制欐木的质量, 本文建立反相高效液相色谱法(RP-HPLC)同时测定浙江产欐木叶中槲皮素和山奈酚的含量。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), G1379A 在线脱气泵, G1311A 四元

① 浙江省新苗人才计划资助项目(2010R413032)

② 联系人, 电话: (0577) 86699572; 手机: (0) 13906649038; E-mail: pxj666@163.com

作者简介: 胡小玲(1986—), 女, 浙江省温州市人, 在读本科, 主要从事中药质量标准研究工作。

潘晓军(1978—), 男, 江西省宜春市人, 讲师, 硕士, 主要从事中药资源及质量控制研究工作。

比例阀, G1316A 柱温箱, G1314A 紫外检测器; Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6mm×250mm, 5 $\mu$ m, 美国 Agilent 公司); 舒美 KQ-500DE 型医用数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); BS210S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); 3 号筛(50 目筛); UPWS 超纯水器(杭州永洁达净化科技有限公司); 101-1-BS 电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂)。

乙腈为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司); 甲醇为分析纯(中国上海试剂总厂); 盐酸为分析纯(中国浙江衢州巨化试剂有限公司); 榿皮素(批号: 117-39-5, 纯度 $\geq$ 98%), 山奈酚(批号: 520-18-3, 纯度 $\geq$ 98%) 来自成都曼思特生物科技有限公司; 榿木叶, 红花榿木叶均采于温州市大罗山, 经温州医学院蔡进章老师鉴定为榿木[*Loropetalum chinensis* (R. Br.) Oliv.] 和红花榿木[*Loropetalum chinensis* (R. Br.) Oliv. var. *rubrum* Yieh] 的叶。实验用水为超纯水。

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(4.6mm×250mm, 5 $\mu$ m, 美国 Agilent 公司); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸(35:65, V/V); 流速: 1mL/min; 检测波长: 360nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 $\mu$ L。在此色谱条件下, 以榿皮素和山奈酚的峰计算理论塔板数分别为 7600 和 6800, 分离度良好, 见图 1—3。

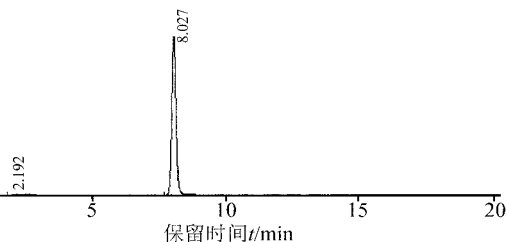


图 1 榿皮素标准品色谱图

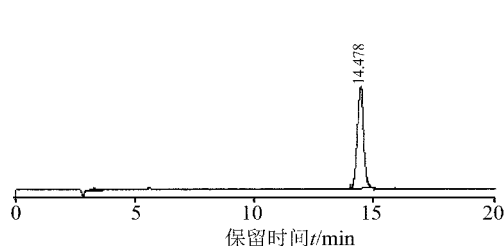


图 2 山奈酚标准品色谱图

### 2.2.2 对照品溶液的制备

准确称取榿皮素, 山奈酚标准品各 10mg, 用甲醇配成浓度均为 0.1mg/mL 的溶液, 即得对照品母液。

### 2.2.3 对榿木叶鲜品的处理方法

将采集的榿木叶及红花榿木叶分开并标记, 于烘箱中 60 $^{\circ}$ C 烘干至恒重, 置干燥器中保存备用。

### 2.2.4 供试品溶液的制备

取榿木叶或红花榿叶, 粉碎后过 3 号筛, 称取粉末约 1g 于圆底烧瓶中, 加入 80% 甲醇 50mL, 称重, 回流提取 1h, 再称重, 用 80% 甲醇补足减失重量。过滤, 取 25mL 滤液, 依次加入 5% HCl 10mL、80% 甲醇 5mL, 回流 30min, 放冷, 用甲醇定容于 50mL 容量瓶中, 摇匀, 得样液。

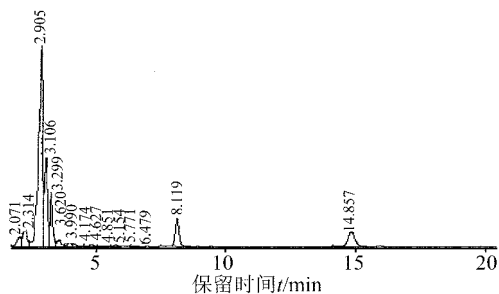


图 3 榿木叶样品色谱图

## 3 结果与讨论

### 3.1 线性关系的考察

准确量取对照品母液 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5.0mL, 各置于 10mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 制成不同浓度的标准品溶液。将配得不同浓度标准品溶液及对照品母液各进样 20 $\mu$ L, 以峰面积(A)和浓度(C)求线性方程为:

槲皮素校准线性方程为  $A = 64814.674 \times C - 91.516$  ( $r = 0.9998$ )

山奈酚校准线性方程为  $A = 80542.513 \times C - 91.916$  ( $r = 0.9999$ )

实验结果表明, 槲皮素, 山奈酚在 1– 100 ng/μL 的范围内均具有良好的线性关系。

### 3.2 精密度实验

准确吸取浓度为 0.01 mg/mL 的槲皮素和山奈酚对照品液 20 μL, 重复进样 6 次, 得两对照品的峰面积 RSD 分别为 1.344% (槲皮素), 1.708% (山奈酚), 以上数据表明本方法精密度良好。

### 3.3 重复性实验

取同一批槲木叶粉末 5 份, 每份约 1.0 g, 准确称定, 按照“2.2.4”项下方法制备得供试品液, 进行含量测定, 结果为 RSD= 2.87% (槲皮素), RSD= 2.68% (山奈酚)。

### 3.4 回收率实验

取已知含量(槲皮素含量为 0.268%, 山奈酚含量为 0.162%)的槲木叶若干, 粉碎, 过筛, 准确称取 6 份, 每份约 1g, 置圆底烧瓶中, 分别准确加入对照品母液 5 mL 2 份, 10 mL 2 份, 15 mL 2 份, 水浴挥干, 按“2.2.4”项下方法制备供试品液, 按“2.2.1”项色谱条件测定, 计算回收率, 实验结果见表 1、表 2。

表 1 槲皮素回收率实验结果

试验号	取样量 (g)	样品中的量 (mg)	加入的量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.0055	2.695	1.0	3.719	102.40	102.08	1.79
2	1.0039	2.690	1.0	3.707	101.70		
3	1.0060	2.696	1.0	3.731	103.50		
4	1.0026	2.687	1.5	4.256	104.60		
5	1.0049	2.693	1.5	4.203	100.67		
6	1.0063	2.697	1.5	4.191	99.60		

表 2 山奈酚回收率实验结果

试验号	取样量 (g)	样品中的量 (mg)	加入的量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.0055	1.629	1.0	2.583	95.40	99.31	2.85
2	1.0039	1.626	1.0	2.637	101.10		
3	1.0060	1.630	1.0	2.634	100.40		
4	1.0063	1.630	1.5	3.109	98.60		
5	1.0026	1.624	1.5	3.172	103.20		
6	1.0049	1.628	1.5	3.085	97.13		

### 3.5 样品的含量测定

按拟定的含量测定方法测定槲木叶和红花槲木叶中槲皮素、山奈酚的含量, 按外标法计算, 结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果

( $n = 3$ )

样品名	槲皮素(g/g, %)		山奈酚(g/g, %)	
槲木叶	0.253	0.248	0.167	0.170
	0.241		0.173	
	0.249		0.171	
红花槲木叶	0.294	0.304	0.136	0.140
	0.301		0.143	
	0.318		0.141	

### 3.6 讨论

#### 3.6.1 流动相的选择

在对流动相进行考察的过程中, 发现采用酸性流动相, 可有效提高柱效, 减少槲皮素、山奈酚的色谱峰拖尾现象, 而其中以 0.4% 磷酸水溶液的分离效果最佳。同时, 对乙腈和 0.4% 磷酸的体积比例考察发现, 随着乙腈含量的增加, 槲皮素和山奈酚的出峰时间会明显提前, 且分离效果良好, 比较后得到乙腈: 0.4% 磷酸= 35: 65 所组成的流动相分离效果最佳。

#### 3.6.2 供试品溶液制备方法的选择

实验对样品处理方法进行了考察。实验中考察了超声提取法、加热回流提取法、冷浸法 3 种方法, 结果表明, 加热回流法提取效率最高, 超声法和冷浸法提取效率更低, 故本文选用加热回流法处理样品。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 1977 年版. 北京: 化学工业出版社, 1977. 528—529.
- [2] 李雪晶, 高叶, 周小江. 槲木叶中槲皮素的含量测定[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(2): 46—48.
- [3] 游璐茜, 吴振, 赵玉芳. 槲木中槲皮素、山奈酚和杨梅素含量的高效液相色谱法测定[J]. 化学通报, 2009, 72(10): 898—900.

## Determination of Quercetin and Kaempferol in the Leaves of *Loropetalum Chinensis*(R. Br.) Oliv. from Zhejiang

HU Xiao-Ling CHEN Yue-Tao ZHANG Jin-Jing PAN Xiao-Jun

(Department of Medicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325035, P. R. China)

**Abstract** A method based on reversed phase high performance liquid chromatography was developed to simultaneously determine the content of quercetin and kaempferol in the leaves of *Loropetalum chinensis*(R. Br.) Oliv. from Zhejiang. Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column was used at 25 °C with a mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (35: 65) at a flow rate of 1.0 mL/min. The UV wavelength of detection was at 360nm. Quercetin and kaempferol were better in linear correlation between 1—100ng/μL ( $r_{\text{Quercetin}} = 0.9998$ ,  $r_{\text{Kaempferol}} = 0.9999$ ). The method is very simple, accurate and with good reappearance, which can be used for quality control in the leaves of *Loropetalum chinensis* (R. Br.) Oliv. .

**Key words** Leaves of *Loropetalum Chinensis* (R. Br.) Oliv.; Quercetin; Kaempferol; High