

高效液相色谱法测定白饭树中槲皮素的含量

夏爱军^①, 韦少宣^②, 廖厚知^③, 梁 园^①, 张云波^①

[摘要] 目的 建立白饭树中槲皮素的含量测定方法。方法 采用 VP-ODS C₁₈(4.6 mm × 150 mm 5 μm) 色谱柱; 以甲醇-0.2% 磷酸溶液(55:45) 为流动相; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 372 nm。结果 白饭树中的槲皮素在 0.1002 ~ 0.5010 μg 范围内进样量与峰面积的线性关系良好($r = 0.9999$); 平均回收率为 99.25%, RSD 为 1.16%。结论 所建立的方法准确、灵敏、重复性好, 可用于白饭树药材的质量控制。

[关键词] 白饭树; 槲皮素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1008-9926(2011)05-0444-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.05.022

Determination of Quercetin in *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill.

XIA Ai-jun^①, WEI Shao-xuan^②, LIAO Hou-zhi^③, LIANG Yuan^①, ZHANG Yun-bo^①

^①Department of Pharmacy, Hospital 303 of PLA, Nanning 530021, China; ^②Department of Traditional Chinese Medicine, Pharmaceutical College, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530021, China; ^③Guangxi Huike Institute of Materia Medica, Nanning 530007, China

[Abstract] **Objective** To establish a determination method for quercetin in *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill. **Methods** VP-ODS C₁₈(4.6 mm × 150 mm 5 μm) column was used. The mobile phase consisted of methanol-0.2% phosphoric acid solution(55:45), with the flow rate at 1.0 ml/min. The detection wavelength was at 372 nm. **Results** The linear relation of quercetin was good in the range of 0.1002-0.5010 μg. The average recovery was 99.25% and RSD was 1.16%. **Conclusion** The method is accurate, sensitive and reproducible. It can be applied to the quality control of *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill.

[Key words] *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill.; quercetin; high performance liquid chromatography

白饭树 *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill. 为大戟科(*Euphorbiaceae*) 白饭树属(*Flueggea*) 植物。又名金柑藤、密花叶底珠、鱼眼木、雀饭树等, 全株入药, 味苦、微涩、性凉, 有小毒, 具清热解毒、消肿止痛、止痒止血等功效, 外用可治疗湿疹、脓疱疮、过敏性皮炎、疮疖及烧烫伤等^[1]。槲皮素为白饭树的有效成分之一, 本研究建立了高效液相色谱法测定白饭树中槲皮素的含量, 旨在为白饭树的质量标准制定提供试验依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 LC-2010A 高效液相色谱仪; 检测器: SPD-M10Avp 紫外检测器; 十八烷基硅烷键合硅胶

色谱柱(VP-ODS 柱, 150 mm × 4.6 mm 5 μm), 保护柱: YWG C₁₈ 10 mm × 4.6 mm; (均为日本岛津制作所); AB265-S 分析天平(梅特勒-托利多); UV-2450 分光光度计(日本岛津制作所)。

1.2 试剂 白饭树药材(由广西汇科药物研究所工程师廖厚知采集并鉴定为白饭树 *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Baill. 采集地点分别为广西南宁(F1)、桂林(F2)、百色(F3)、河池(F4)、柳州(F5)、钦州(F6)、防城港(F7)) 槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯、盐酸、磷酸均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 岛津 VP-ODS 柱(150 mm × 4.6 mm 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液(55:45); 流速: 1.0 ml/min 柱温: 室温; 检测波长: 372 nm。

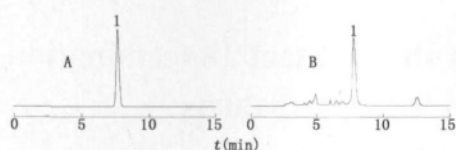
2.2 溶液的配制 (1) 对照品溶液 精密称取槲皮素对照品适量, 加甲醇制成 30 μg/ml 的溶液, 即得。(2) 样品溶液 取本品粉末(过三号筛) 0.5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加三氯甲烷 80 ml, 加热

作者简介: 夏爱军, 学士, 主任药师。研究方向: 医院药学。
Tel: (0771) 2870266; E-mail: singerxaj2002@yahoo.com.cn

作者单位: ① 530021 广西南宁, 解放军 303 医院药剂科;
② 530021 广西南宁, 广西中医学院药学院中药教研室; ③ 530007 广西南宁, 广西汇科药物研究所

回流提取至无色,弃去三氯甲烷液,残渣挥干三氯甲烷液,置 100 ml 圆底烧瓶中,加甲醇-2.5 mol/L 盐酸溶液(4:1) 30 ml,水浴加热回流 30 min,放冷,移至 50 ml 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.3 系统适用性试验 分别精密吸取对照品溶液、样品溶液各 10 μ l,注入高效液相色谱仪,按确定的色谱条件测定,在此条件下样品中槲皮素的理论塔板数为 4689,分离度为 2.0,与其他成分分离良好,见图 1。



A: 对照品; B: 供试品; 1: 槲皮素

图 1 高效液相色谱图

2.4 线性关系的考察 精密称取槲皮素对照品 10.02 mg,置 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 1、2、3、4、5 ml,分别置 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得,按上述色谱条件,以峰面积积分(Y)对槲皮素进样量(X, μ g)进行回归分析,得回归方程:

$$Y = 4\,390\,894X - 10\,886, r = 0.9999$$

表明槲皮素在 0.1002 ~ 0.5010 μ g 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取槲皮素对照品溶液(30.06 μ g/ml),按上述色谱条件,依法测定,重复进样 6 次,测定色谱峰面积,得 RSD 为 0.85%。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一批样品(F1) 0.5 g,按 2.2(2)项下制备样品溶液,在 2、4、6、8、24、48、72 h 内进行分析,测定色谱峰面积,计算 RSD 为 0.77%,表明样品溶液制备后 72 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份(F1),按 2.2(2)项下制备样品溶液,测定含量进行分析,结果平均含量为 2.840 mg/g, RSD 为 1.15%,表明本测定方法重复性好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量(2.840 mg/g)的样品 6 份(F1),每份取 0.25 g,精密称定,置 50 ml 量瓶中,精密加入 0.7 ml 槲皮素对照品溶液(1.012 mg/ml),挥去甲醇,按 2.2(2)项下制备,分别注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定槲皮素峰面积,计算回收率,结果见表 1。

2.9 样品的含量测定 取白饭树样品 7 批,按上述方法测定,表明不同产地的白饭树中槲皮素的含量在 0.2470% ~ 0.3718% 之间,结果见表 2。

表 1 槲皮素回收率试验结果

取样量 (g)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.2511	0.7131	0.7084	1.4073	98.00		
0.2504	0.7111	0.7084	1.4217	100.31		
0.2495	0.7086	0.7084	1.4202	100.45	99.25	1.16
0.2524	0.7168	0.7084	1.4136	98.36		
0.2543	0.7222	0.7084	1.4184	98.28		
0.2522	0.7162	0.7084	1.4254	100.11		

表 2 样品含量测定试验结果(n = 2)

序号	取样量 (g)	含量 (%)
F1	0.5027	0.2836
F2	0.4991	0.3322
F3	0.5022	0.3718
F4	0.5005	0.2569
F5	0.5036	0.3360
F6	0.5014	0.2565
F7	0.5072	0.2470

3 讨论

白饭树作为广西民间一味常用道地药材,其相关文献报道较少,目前还没有质量控制的相关报道,为此,本研究以白饭树中槲皮素的含量作为测定指标,建立方法,旨在为白饭树药材的质量控制提供含量测定依据。有关槲皮素的提取与分离测定,文献^[2,3]曾报道采用盐酸的甲醇溶液提取槲皮素测定含量。在含量测定的过程中,药物有效成分的提取是达到分离条件的重要因素之一。在本试验中,白饭树药材的提取曾采用甲醇超声提取、甲醇回流提取、三氯甲烷回流提取后甲醇提取、甲醇-盐酸回流提取、三氯甲烷回流后甲醇-盐酸提取,结果其他方法杂质峰多,难以分离;三氯甲烷回流后甲醇-盐酸提取,杂质峰较少,达到试验目的,故选择此条件。在流动相的选择上探讨过甲醇-0.2% 磷酸水溶液(65:35)^[4],结果分离度未能达到要求;甲醇-0.1% 磷酸水溶液(48:52)^[3],结果分离度达到要求,但槲皮素保留时间长。本方法分离度大于 1.5,出峰时间为 7.8 min,缩短了试验时间,达到试验要求。

[参考文献]

- [1] 王国才,梁洁平,王英,等.白饭树的化学成分[J].中国天然药物,2008,6(4):251-253
- [2] 贾彦胜,高志强.HPLC 法测定大枣中槲皮素的含量[J].医学信息,2010,23(10):163-164
- [3] 李华荣,高逢喜,任贻军.高效液相色谱法测定木瓜中槲皮素的含量[J].医药导报,2010,29(9):1199-1200
- [4] 杨玲娟,焦成瑾,葛勤,等.高效液相色谱法测定旋复花中槲皮素的含量[J].化学分析,2010,19(1):65-66

(收稿日期:2011-03-23;修回日期:2011-04-02)

(本文编辑 梁爱君)