

反相高效液相色谱法测定新疆枸杞叶茶中 芦丁和槲皮素的含量

刘波^{1*}, 张浩科¹, 宫海燕²

(1. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的: 采用反相高效液相色谱法测定新疆枸杞叶茶中的芦丁和槲皮素的含量。方法: Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.04% 磷酸水溶液(用三乙胺调 pH 3.0)(45:55), 检测波长 360 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 芦丁和槲皮素的线性范围分别在 0.23 ~ 1.84 μg 和 0.03 ~ 0.24 μg, 回收率分别为 98.19%、97.98%。RSD 分别为 1.49%、2.25%。结论: 本方法简便、可靠、重现性较好, 为新疆枸杞叶茶的质量控制提供了快速、准确的测定方法。

[关键词] 反相高效液相色谱法; 枸杞叶茶; 芦丁; 槲皮素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0092-03

Determination of Rutin and Quercetin in Tea of *Lycium barbarum* Leaves by RP-HPLC

LIU Bo^{1*}, ZHANG Hao-ke¹, GONG Hai-yan²

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. College of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To determine active constituents quercetin and rutin in tea of *Lycium barbarum* leaves

[收稿日期] 20100911(005)

[通讯作者] * 刘波, 讲师, 硕士, 从事中药药剂研究, Tel: 0991-4362964, E-mail: zhanghk360@sohu.com

3.8 样品含量测定 取抗菌消炎胶囊样品, 按照 3.2 项下方法制备供试品溶液, 照 3.1 项下色谱条件测定。结果 3 批抗菌消炎胶囊含黄芩苷分别为 4.74、4.65、4.69 mg/粒。

4 讨论

对本制剂中百部及大黄进行 TLC 鉴别研究, 均与阴性样品为对照。结果表明, 各 TLC 斑点不受样品中其他成分干扰, 专属性强, 重复性好。可作为该制剂定性鉴别指标。我们还对大青叶、知母、金钱草的薄层鉴别进行研究, 结果显示, 阴性有干扰, 有待于进一步研究。

考虑到抗菌消炎胶囊中黄芩为原生药粉加入, 故参考 2005 版《中国药典》中黄芩苷的提取方法^[2]。此外还对多种流动相进行了考察, 根据样品的分离度、保留时间等因素, 确定了黄芩苷 HPLC 的

最佳流动相为水-甲醇-磷酸(53:47:0.2), 通过对以上试验条件的方法学考察, 结果表明, 采用 HPLC 色谱法测定抗菌消炎胶囊中的黄芩苷含量, 方法简便可靠, 分离度高, 重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[参考文献]

- [1] 中药成方制剂[S]. 7: 75.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005: 212, 附录 31, 33.
- [3] 徐纪文, 罗素芳. HPLC 法测定黄芩中不同部位的黄芩苷含量[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 235.
- [4] 苏健, 向东, 张斌华, 等. HPLC 测定滇黄芩中黄芩苷的含量[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(4): 350.
- [5] 聂继红, 王萍, 孙蕾, 等. 黄芩中黄芩苷提取工艺的研究[J]. 中国药房, 2005, 16(14): 1051.

[责任编辑 蔡仲德]

by RP-HPLC. **Method:** Rutin and quercetin were separated on an Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol-0.04% phosphoric acid (pH was adjusted to 3 with diethylamide) (45:55) as mobile phases. The detecting wavelength was at 360 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The linear ranges of rutin and quercetin were within 0.23-1.84 μg and 0.03-0.24 μg respectively. The recoveries were 98.19% and 97.98%, RSDs were 1.49% and 2.25% respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate, and reliable, which provides the basis of a better development for the tea of *L. barbarum* in Xinjiang.

[Key words] RP-HPLC; tea of *Lycium barbarum*; rutin; quercetin

枸杞叶是茄科植物枸杞 *Lycium barbarum* L. 的叶,俗称天精草,民间用作炒食或代茶饮。《本草纲目》称枸杞叶有“除烦益志,补五劳七伤,壮心气,除热毒,散疮肿,除风明目”之功效。有研究表明,枸杞叶中黄酮含量高于枸杞子^[1-2];现代医药学研究表明,枸杞叶含有丰富的营养成分和活性物质,具有降血压、降血脂、降血糖、预防心血管疾病、预防白内障、清除自由基、促进益生菌细胞生长、抗氧化、抗疲劳、抗癌、抗衰老、耐缺氧、抗微生物感染等功能^[3-4],因此研究及分析枸杞叶中的黄酮类化合物对枸杞叶的基础研究和开发应用具有重要意义^[5]。新疆气候干旱少雨,地产药用植物资源丰富,是我国枸杞系列主产区之一,新疆枸杞子的研究报道已经很深入,而枸杞叶的研究报道较少,研究及分析枸杞叶中的黄酮类化合物也较少;同时,每年有大量可用的枸杞叶被浪费^[6]。为了综合利用枸杞资源,我们利用 RP-HPLC,建立了测定枸杞叶中芦丁、槲皮素的含量方法。

1 仪器与试剂

半制备高效液相色谱仪(LC-6AD 高压泵,SPD-20A 型紫外检测器,CBM-20A 色谱工作站)(日本岛津公司),XS105 型 1/10 万电子天平,AL204 型 1/万电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),Millipore 超纯水仪,KQ-200KDE 型高功率数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

芦丁对照品(批号 091-9903)、槲皮素对照品(批号 091-0712)购于中国药品生物制品检定所。枸杞叶茶购自新疆天杞科技开发有限责任公司。所用试剂均为色谱纯,水为超纯水。

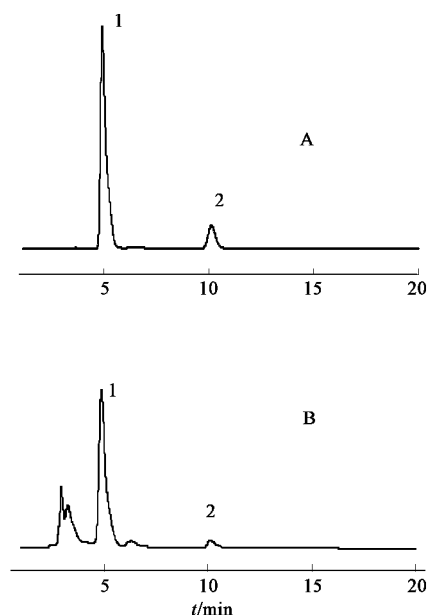
2 方法与结果

2.1 供试液的制备 精密称取枸杞叶茶粉末(过 20 目筛)约 0.5 g 至 50 mL 量瓶中,加入 45 mL 甲醇超声提取 30 min,用甲醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,即为供试品溶液。

2.2 对照品溶液制备 分别精密称取减压干燥至

恒重的芦丁和槲皮素对照品,用甲醇定容于 10 mL 量瓶中,质量浓度分别为 1.03 g·L⁻¹,1.16 g·L⁻¹,分别吸取一定量的 2 种对照品溶液,混合,加甲醇稀释,摇匀,制得芦丁、槲皮素(0.092 2, 0.012 g·L⁻¹)混合对照品溶液。

2.3 色谱条件^[7-8] KromasilC₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 A 0.04% 磷酸水溶液,用三乙胺调至 pH 3.0, B 甲醇(色谱醇)检测波长 360 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。分别按照供试品及对照品溶液制备项下方法制备供试品及对照品溶液,按上述色谱条件,各进样 10 μL,确定芦丁和槲皮素峰,按芦丁及槲皮素的峰面积计算,柱理论塔板数不低于 2 000。见图 1。



A. 混合对照品; B. 样品; 1. 芦丁; 2. 槲皮素

图 1 枸杞叶茶 HPLC

2.4 标准曲线的绘制 按上述色谱条件,精密吸取混合对照品溶液 2.5, 5, 10, 15, 20 μL,测定,以样品进样量-峰面积积分为坐标,绘制标准曲线,得回归方程芦丁 $Y = 1.80 \times 10^5 X - 7.55 \times 10^4$ ($r =$

0.999 7) ,在 0.23 ~ 1.84 μg 对照品进样量与峰面积值呈良好线性关系。槲皮素 $Y = 3.46 \times 10^3 X - 7.37 \times 10^2$ ($r = 0.999\ 3$) ,在 0.03 ~ 0.24 μg 对照品进样量与峰面积值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取 2.1 方法下供试品溶液 10 μL ,进样 6 次 ,得峰面积积分值 ,计算芦丁、槲皮素峰面积积分值 ,RSD 分别为 2.9% ,3.5% 。

2.6 重现性试验 精密称取枸杞叶茶 0.5 g ,按样品测定方法 ,进行 5 次平行实验 ,结果平均质量分数芦丁为 3.84 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 2.31% ;槲皮素平均质量分数为 0.24 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 3.35% 。

2.7 稳定性试验 精密吸取 2.1 项下供试品溶液 10 μL ,按上述色谱条件在 0 ,2 ,4 ,8 ,12 ,24 h 测定 ,记录峰面积积分值。芦丁、槲皮素的峰面积积分值的 RSD 分别为 2.13% ,2.31% 。供试品溶液在制备

后 24 h 内性质稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 (芦丁 3.94 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,槲皮素 0.24 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 各 5 份 ,分别精密加入芦丁及槲皮素对照品 ,按样品测定方法进行测定 ,计算回收率 ,结果芦丁及槲皮素的平均回收率分别为 98.19% ,97.98% ,RSD 分别为 1.49% ,2.25% 。结果见表 1。

2.9 样品测定 精密吸取所制备的供试品溶液 ,进样 10 μL ,按上述色谱条件测定 ,计算药材中芦丁和槲皮素的质量分数 ,结果见表 2。

3 讨论

本试验采用反相高效液相法测定新疆枸杞叶茶中的芦丁和槲皮素的含量 ,色谱条件:采用甲醇-0.04% 磷酸(45:55) 为流动相 ,芦丁和槲皮素的峰在 15 min 内能够完全分离 ,互不干扰。

表 1 新疆枸杞叶茶中芦丁和槲皮素加样回收率

成分	样品量 /g	样品中含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
芦丁	0.515	2.029	2.127	4.082	98.22	98.19	1.49
	0.507	1.998		3.976	96.40		
	0.511	2.013		4.041	97.60		
	0.503	1.982		4.036	98.23		
	0.505	1.990		4.138	100.52		
槲皮素	0.515	0.124	0.123	0.237	96.03	97.98	2.25
	0.507	0.122		0.242	98.82		
	0.511	0.123		0.238	96.81		
	0.503	0.121		0.236	96.75		
	0.505	0.121		0.248	101.47		

表 2 样品中芦丁、槲皮素的质量分数 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	芦丁	槲皮素
090801	3.934	0.236
090802	3.882	0.226
090903	4.032	0.248
090904	3.960	0.253
090905	3.911	0.242

试验结果表明 ,RP-HPLC 比较灵敏、准确、重现性较好。对新疆枸杞叶茶中的芦丁和槲皮素的含量进行了测定 ,发现芦丁含量较高 ,可作为新疆枸杞叶茶的质量控制的指标之一 ,而槲皮素在枸杞叶茶叶中含量很低 ,故认为不宜作为定量指标。

[参考文献]

[1] 何进 ,阎淳泰 ,章继华. 枸杞叶成分研究进展及产品开发展望[J]. 农牧产品发 ,1995 (9) :26.
[2] 李国莉 ,黄元庆. 宁夏枸杞不同组分黄酮含量分析

[J]. 宁夏医学院学报 ,1995 ,17(2) :114.
[3] 张华峰 ,王瑛 ,黄宏文. 黄酮类化合物生物合成途径的进化及其在淫羊藿中的研究展望[J]. 中草药 ,2006 ,37(11) :1745.
[4] 雍晓静 ,刘钢 ,张境. 应用大孔树脂分离纯化枸杞叶总黄酮的研究[J]. 宁夏大学学报:自然科学版 ,2005 ,26(2) :148.
[5] 邹耀洪. 枸杞叶的黄酮类化学成分[J]. 分析测试学报 ,2002 ,21(1) :76.
[6] 乐夫. 枸杞叶的药用价值甚高[J]. 新疆林业 ,2002 , (6) :33.
[7] 朱铁姮 ,赵鸿雁 ,罗贤标 ,等. 反相高效液相色谱法测定槐米中槲皮素的含量[J]. 南京医科大学学报 ,2004 ,24(5) :551.
[8] 程秀民 ,坐学兰 ,高彦慧 ,等. RP-HPLC 测定槐米中芦丁和槲皮素含量[J]. 中成药 ,2004 ,26(8) :680.

[责任编辑 仝燕]