

## RP-HPLC测定糙叶五加不同药用部位中槲皮素和山柰酚

陈勇<sup>1</sup>, 邹亲朋<sup>2</sup>, 刘向前<sup>2,3\*</sup>, 高敬铭<sup>4</sup>, 吴旻真<sup>5</sup>

1. 湖南人文科技学院, 湖南 娄底 417000
2. 中南大学 制药工程系, 湖南 长沙 410083
3. 湖南中医药大学 药学院, 湖南 长沙 410208
4. 长沙博海生物科技有限公司, 湖南 长沙 410205
5. Catholic上智大学传统药材管理科, 韩国庆尚北道 安东市 760-711

**摘要:**目的 建立同时测定糙叶五加不同药用部位中槲皮素和山柰酚的方法。方法 采用RP-HPLC法, 色谱柱为AT.Lichrom ODS-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-磷酸-水(50:0.2:49.8)为流动相, 柱温30℃, 体积流量1.0 mL/min, 检测波长360 nm, 进样量10 μL。结果 槲皮素在0.018~0.720 μg线性关系良好( $r=0.9996$ ), 加样回收率为98.41%, RSD为0.91%; 山柰酚在0.016~0.640 μg线性关系良好( $r=0.9997$ ), 加样回收率为98.06%, RSD为1.39%。槲皮素和山柰酚在叶中的量最高, 其次是茎, 根中未检出。结论 对糙叶五加不同药用部位槲皮素和山柰酚进行了测定, 所建立的HPLC法稳定性好、准确性高, 适用于糙叶五加中槲皮素和山柰酚的定量分析。

**关键词:** 糙叶五加; 槲皮素; 山柰酚; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1; R286.02 文献标识码: A 文章编号: 1674-5515(2011)04-0310-03

## Determination of quercetin and kaempferol in different medicinal parts of *Acanthopanax henryi* by RP-HPLC

CHEN Yong<sup>1</sup>, ZOU Qin-peng<sup>2</sup>, LIU Xiang-qian<sup>2,3</sup>, GAO Jing-ming<sup>4</sup>, OH O-jin<sup>5</sup>

1. Hunan Institute of Humanities, Science and Technology, Loudi 417000, China
2. Department of Pharmaceutical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China
3. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
4. Changsha Broad-Ocean Bio-Science & Technique Co., Ltd., Changsha 410205, China
5. Department of Herbal Medicines Management, Catholic Sangji College, Andong-city 760-711, Korea

**Abstract: Objective** To establish a RP-HPLC method for the determination of quercetin and kaempferol in different medicinal parts of *Acanthopanax henryi*. **Methods** The analysis was performed on an AT.Lichrom ODS-C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with methanol-phosphoric acid-water (50:0.2:49.8) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 30℃, and the detection wavelength was 360 nm. **Results** The established method showed good linearity for quercetin and kaempferol over the range of 0.018—0.720 μg ( $r=0.9996$ ) and 0.016—0.640 μg ( $r=0.9997$ ), respectively. The average recovery of the method for quercetin and kaempferol were 98.41% with the RSD 0.91% and 98.06% with the RSD 1.39%, respectively. The highest content of quercetin and kaempferol was in the leaves of *A. henryi*, followed by stems, and undetected in roots. **Conclusion** Contents of quercetin and kaempferol in different medicinal parts of *A. henryi* are determined. The established HPLC method shows good stability and high accuracy, and can be used for the quantitative analysis of quercetin and kaempferol in *A. henryi*.

**Key words:** *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms; quercetin; kaempferol; HPLC

糙叶五加*Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms为 其有祛风湿、活血化瘀、壮筋骨等功效, 在我国河南、陕西、甘肃和四川分布较广<sup>[3]</sup>。糙叶五加中的五加科五加属植物, 以根皮入药<sup>[1-2]</sup>, 历代医书记载

收稿日期: 2010-12-21

基金项目: 湖南省教育厅产业化项目(09CY020)

作者简介: 陈勇(1974—), 男, 湖南新化人, 高级农艺师, 研究方向为中药材生产与加工。Tel: (0738)8325304 E-mail: henon@163.com

\*通讯作者 刘向前, 男, 教授, 研究方向为中药和天然产物的活性成分研究。Tel: (0731)88995848 E-mail: lxq0001cn@163.com

槲皮素在抗肿瘤、抗氧化、抗血栓、抗糖尿病及保护心血管和止泻等方面具有广泛的应用价值<sup>[4]</sup>，山柰酚具有抗菌、止咳、抗癌、抗氧化等作用。张会昌等<sup>[5]</sup>在糙叶五加根皮的正丁醇和醋酸乙酯萃取物中分离得到了紫丁香苷、紫丁香酚苷、紫丁香树脂醇、β-谷甾醇等化合物，而对糙叶五加不同药用部位黄酮类化合物的研究未见相关报道。笔者前期已对五加属植物的活性成分作了报道<sup>[6-9]</sup>，作为系统研究五加属植物活性成分的一部分，本实验采用高效液相色谱法对糙叶五加不同部位中的槲皮素和山柰酚进行了定量分析。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-10AT型高效液相色谱仪（配备SPD-10A型紫外可见检测器和CBM-102型色谱工作站，日本岛津公司）；2100型紫外-分光光度计（北京莱伯泰科仪器有限公司）；AUW-120D高精度电子天平（日本岛津公司）；AS3120A超声波清洗器（天津奥特塞恩斯仪器有限公司）。

### 1.2 试剂

2009年11月采集于湖南新化的3批糙叶五加根、茎、叶，批号为091101、091102、091103，自然阴干，经韩国庆熙大学陆昌洙教授鉴定为糙叶五加 *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms 的根、茎、叶；槲皮素（批号0081-9304，质量分数为99.88%）和山柰酚（批号0861-200002，质量分数>99%）对照品均购自中国药品生物制品检定所。甲醇、乙腈为一级色谱纯，提取用甲醇、氯仿、正己烷及实验用盐酸、磷酸、冰醋酸均为天津市科密欧化学试剂有限公司生产的分析纯试剂；水为双蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱：ATLichrom ODS-C<sub>18</sub>柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇-磷酸-水（50：0.2：49.8）；柱温：30℃；体积流量：1.0 mL/min；检测波长：360 nm；进样量：10 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 混合对照品溶液的制备** 精密称定槲皮素1.80 mg和山柰酚1.60 mg，置于同一50 mL量瓶中，甲醇溶解，定容，超声10 min，过0.45 μm滤膜，即得质量浓度为0.036 mg/mL槲皮素和0.032 mg/mL山柰酚的对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 将糙叶五加40℃干燥

3 h，粉碎，过50目筛备用；取样品1.0 g，用甲醇闪式提取3 min，抽滤，定容至50 mL量瓶，经0.45 μm微孔滤膜滤过，即得。

### 2.3 系统适用性

将配制好的对照品溶液和供试品溶液按色谱条件进样，记录色谱图，见图1。结果显示槲皮素和山柰酚的色谱峰的理论塔板数分别不低于6 000、7 000，且各对照品色谱峰峰形良好，两峰间的分离度大于1.5。

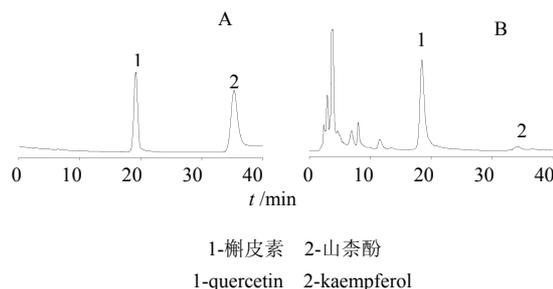


图1 对照品(A)和糙叶五加叶(B)的HPLC图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and leaves of *A. henryi* (B)

### 2.4 线性关系考察

取槲皮素和山柰酚对照品溶液各10 mL于100 mL量瓶中，定容，得稀释10倍的对照品溶液。按色谱条件，依次进样稀释10倍的对照品溶液5、10、20 μL以及原对照品溶液5、10、15、20 μL，进样3次取其平均值，记录各色谱图。以进样量为横坐标，色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线，得槲皮素的回归方程： $Y=2\ 857\ 143 X-4\ 492.6$ ， $r=0.999\ 6$ ，表明槲皮素在0.018~0.720 μg线性关系良好；山柰酚回归方程为 $Y=3\ 585\ 419 X-9\ 712.83$ ， $r=0.999\ 7$ ，表明样品在0.016~0.640 μg线性关系良好。按信噪比S/N=3确定槲皮素和山柰酚的最低检测限分别为0.045、0.053 mg/L，按信噪比S/N=10确定最低定量限分别为0.15、0.18 mg/L。

### 2.5 精密度试验

精密吸取槲皮素和山柰酚对照品溶液，按照色谱条件测定，连续进样6次，每次10 μL，记录峰面积，结果槲皮素峰面积的RSD为1.40%，山柰酚峰面积的RSD为1.35%。

### 2.6 重现性试验

取批号091101糙叶五加叶粗粉5份，每份1.0 g，精密称定，按照供试品溶液的制备方法平行制备，测定槲皮素和山柰酚，结果槲皮素和山柰酚的平均

质量分数分别为3.277、0.123 mg/g, RSD分别为1.47%、1.25%。

### 2.7 稳定性试验

取批号为091101的糙叶五加叶粗粉制备供试品溶液, 在室温下放置, 分别于0、2、4、8 h进样, 计算得槲皮素和山柰酚峰面积的RSD分别为0.91%、1.25%, 表明供试品溶液在8 h内稳定。

### 2.8 加样回收率试验

取批号为091101糙叶五加叶粗粉9份, 每份0.5 g,

精密称量, 平均分为3组, 分别加入混合对照品溶液3、6、9 mL, 制备供试品溶液, 计算回收率, 结果槲皮素的平均回收率为98.41%, RSD为0.91%; 山柰酚的平均回收率为98.06%, RSD为1.39%。

### 2.9 样品测定

分别取对照品溶液和糙叶五加不同部位的供试品溶液各10  $\mu$ L, 测定, 每个批次分别进样3次, 根据色谱图峰面积, 计算槲皮素和山柰酚的质量分数, 结果见表1。

表1 糙叶五加不同药用部位中槲皮素和山柰酚的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of quercetin and kaempferol in different medicinal parts of *A. henryi* (n=3)

批号	部位	槲皮素		山柰酚	
		质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD/%	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )	RSD/%
091101	根	—	—	—	—
091102		—	—	—	—
091103		—	—	—	—
091101	茎	0.139	1.327	—	—
091102		0.144	0.893	—	—
091103		0.141	0.943	—	—
091101	叶	3.257	0.752	0.124	1.061
091102		3.295	0.901	0.124	0.823
091103		3.278	0.857	0.123	0.669

—: 未检出

—: undetected

### 3 讨论

本研究建立了同时测定糙叶五加不同药用部位中槲皮素和山柰酚的方法, 该法准确性高、线性关系好、回收率良好, 为开发利用我国丰富的糙叶五加资源提供了一定的实验依据。

目前, 糙叶五加尚未得到有效利用, 随着研究的不断深入, 在药品、食品和保健品领域将有广泛的开发应用价值。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 第54卷. 北京: 科学出版社, 1978: 86-116.
- [2] 冯 胜, 刘向前, 张伟兰, 等. RP-HPLC法测定糙叶五加不同部位中刺五加苷B和E [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1144-1146.
- [3] 倪 娜, 刘向前. 五加科五加属植物的研究进展 [J].

中草药, 2006, 37(12): 1895-1900.

- [4] 朱荣鑫, 张赛龙, 金永生. 黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(1): 5-10.
- [5] 张会昌, 贾忠建. 糙叶五加皮化学成分研究 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 1993, 29(1): 76-79.
- [6] 李丽丽, 郑礼胜, 刘向前, 等. 新资源短梗五加及其同属植物根皮中紫丁香苷的HPLC测定研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(10): 140-143.
- [7] 刘向前, 陆昌洙, 张承焯. 细柱五加皮化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 250-252.
- [8] Yook C S, Liu X Q, Chang S Y, et al. Lupane triterpene glycosides from the leaves of *Acanthopanax gracilistylus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(10): 1383-1385.
- [9] Liu X Q, Chang S Y, Park S Y, et al. A new lupane triterpene glycosides from the leaves of *Acanthopanax gracilistylus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(6): 831-836.