

西河柳中抗炎活性成分 槲皮素-3', 4'-二甲醚的HPLC测定

沈阳药科大学 (110015) 陈发奎* 杨晓燕**

摘要 用高效液相色谱法测定中药西河柳中抗炎活性成分槲皮素-3', 4'-二甲醚 (quercetin-3', 4'-dimethylether) 含量, 结果表明含量测定准确, 重现性好。

关键词 西河柳 高效液相色谱法 含量测定

西河柳 *Tamarix chinensis* Lour. 为常用中药, 具散风、解表、透疹功能, 临床用于麻疹不透、风湿痹痛等症。

关于西河柳中活性成分及含量测定均未见研究报道。我们以西河柳为原料提取了黄酮类成分槲皮素-3', 4'-二甲醚, 并对其进行了抗炎实验, 证明其为抗炎活性成分 (另报)。今报道用高效液相色谱法测定该成分在西河柳药材中的含量, 结果表明含量测定准确、重现性好, 从而为西河柳类药材的质量控制提供了一个可靠的分析方法。

1 实验材料、仪器及药品

日立655型HPLC仪; 638-0430型多波长紫外检测器; 655-61型记录仪; C×250型超声波清洗器; 岛津UV-230型紫外分光光度计。

西河柳, 购于青岛市药材公司, 经鉴定原植物为 *Tamarix chinensis* Lour.。

2 条件考察

为了减少样品液中杂质对柱的污染, 实验曾将样品提取液回收溶剂后置分液漏斗中先用石油醚脱脂, 再用乙酸乙酯萃取, 萃取液回收溶剂后定容, 测定。测定结果表明经萃取处理的样品液中标准品峰测定值 (299579) 大大低于不经萃取处理的样品液 (即由索氏提取器提取后回收溶剂, 直接定容) 的测定值 (477305)。

将以上石油醚萃取液及乙酸乙酯萃取后的水层进行测定, 均出现较明显的标准品吸收峰, 所以经萃取处理的样品液标准品峰损失的原因显然是由于脱脂时一部分成分溶于石油醚, 另一部分由于乙酸乙酯萃取不完全留在水层所致。所以认为经萃取方法不妥, 只能将提取液直接作为样品液。

2.1 样品提取溶剂的选择: 选用乙酸乙酯、甲醇、乙醇3种溶剂用同一方法进行提取, 取相同量进行HPLC测定, 测得峰面积大小顺序为甲醇>乙醇>乙酸乙酯, 故认为甲醇提取较完全, 应作为提取溶剂。

2.2 检测波长的确定: 对照品甲醇溶液经紫外分光光度计测定, 得紫外吸收谱 (图1), 选取最大吸收波长367nm为检测波长。

3 HPLC条件

色谱柱: Inertsil ODS-2, 5 μ m, 4.6mm×250mm; 流动相: 甲醇-1%醋酸 (80:20); 流速: 0.5ml/min; 柱温: 室温; 进样量: 20 μ l; 纸速: 25mm/min; 紫外检测波长: 367nm; 灵敏度: 0.04AUFs。

*Address, Chen Fakui, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang

**本校94届硕士研究生

4 标准曲线的绘制

精密称取自提并经紫外、红外、核磁等光谱鉴定的槲皮素-3', 4'-二甲醚对照品0.001g, 置25ml容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 准确吸取0.2、0.4、0.6、0.8 1.0、1.2ml, 分别置10ml容量瓶中, 补加甲醇至刻度。分别用微量进样器进样20μl, 按HPLC条件进行测定, 以对照品重量为横座标, 测得峰面积为纵座标作图, 为一通过原点的直线, 表明在0.016~0.096μg范围内呈良好的线性关系。回归方程为:
 $A = -7600.13 + 1491.25 \times 10^3 C$ ($r = 0.9997, n = 6$)

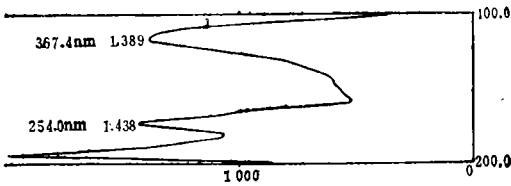


图1 标准品甲醇液紫外吸收

5 样品测定

精密称取西河柳0.5000g, 置索氏提取器中, 以甲醇回流提取至无色, 回收甲醇, 转移至100ml容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 静置。用移液管吸取上清液2.4ml, 定容至100ml, 用0.45μm滤膜滤过, 即为样品溶液。
用微量进样器进样样品溶液20μl, 按HPLC条件测定, 由测得的峰面积计算样品中对照品的百分含量(g/g)。对6份样品测定结果, 西河柳中对照品平均含量为0.115%, RSD = 103%。HPLC谱见图2。

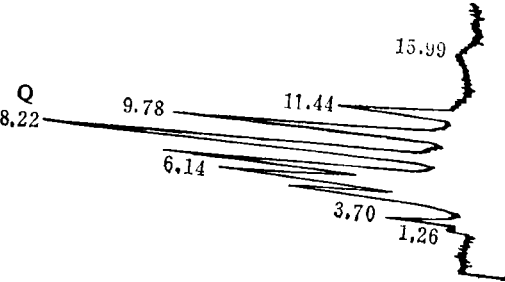


图2 样品液HPLC图

Q-槲皮素-3', 4'-二甲醚

表 回收率测定结果

样品及对照品取量	对照品峰面积 平均值	回收率 (%)	平均回收 率(%)
西河柳1g + 对照品1mg	148111(n=3)		
西河柳1g	73524	98.8	99.0
西河柳0.5g + 对照品1mg	95786.5(n=3)	99.1	
西河柳0.5g	35658.5		

6 回收率测定

精密称取西河柳粉末1g和0.5g各3份, 分别添加对照品1mg, 按以上方法提取, 定容, 另精密称取西河柳粉末1g和0.5g, 不加对照品, 同法提取、定容。分别用微量进样器取以上样品溶液各20μl, 按HPLC条件测定, 计算回收率, 结果如表。

(1994-09-26收稿)

安徽省高校科技函授部 中医大专招生

经省教委批准继续面向全国招生。本着继承和发展祖国医学, 培养具有专业技能的中医人才, 选用12门全国统编中西医函授教材, 与当前全国高等教育自考相配合, 聘有专家教授进行教学, 全面辅导和答疑。愿本部能成为你医学道路上的良师益友。凡具有中学程度者均可报名, 免试入学, 详情见简章。附邮5元至合肥市望江西路6-008信箱中函处, 简章备索。邮编260022 电话0551-5569396