

- [9] Zhang Y P, Xu G J, Jin R L, *et al.* Determination of aristolochic acid A in drugs from *Aristolochia* by RP-HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1993, 24(1): 56.
- [10] Zhao N, Lai J F, Bi K S. Determination of aristolochic acid

A in *Radix Aristolochia* by RP-HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2001, 18(2): 125.

- [11] Fu G X, Zhan S P, Chen W, *et al.* TLCs determination of aristolochia acid in Longdanxiegan Pills [J]. *J Pharm Ana* (药物分析杂志), 2002, 22(3): 17.

## 高效液相色谱法测定叶下珠中槲皮素的含量

田 密<sup>1</sup>, 钟长平<sup>1</sup>, 江铁军<sup>2\*</sup>

(1. 广州奇星药业有限公司, 广东 广州 510310 2 广州陈李济药厂, 广东 广州 510290)

叶下珠为大戟科叶下珠属植物叶下珠 *Phyllanthus urinaria* L. 的干燥全草, 具有清热、解毒、明目等功效, 主要用于治疗腹泻下痢、尿路感染、肝炎等病症<sup>[1,2]</sup>。药理研究表明具有很强的抑制乙肝表面抗原 (HBsAg) 的活性, 保护大鼠肝细胞 CCl<sub>4</sub> 损伤<sup>[3]</sup> 等作用。叶下珠含黄酮类、木脂素类、生物碱类、鞣质等多种成分<sup>[4-8]</sup>, 其中黄酮类化合物具有较明显抗病毒活性<sup>[9]</sup>。槲皮素是叶下珠中黄酮类化合物的主要成分之一, 具有抗自由基、抗氧化、抗癌防癌、抗菌、抗病毒等多种生物活性及药理作用<sup>[10]</sup>。目前尚未见叶下珠中化学成分含量测定的报道, 本实验建立了测定叶下珠中槲皮素含量的方法, 以控制叶下珠药材的质量。

### 1 实验材料

Agilent 1100型高效液相色谱仪 (美国安捷伦), AG-204电子天平 (瑞士 Mettler Toledo); 甲醇为色谱纯; 水为去离子双蒸水; 其他试剂为分析纯。槲皮素对照品 (中国药品生物制品检定所); 叶下珠经广州中医药大学丁平副教授鉴定为大戟科叶下珠属植物叶下珠 *P. urinaria* L. 的全草。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil ODS柱 (4.0 mm×250 mm, 5.0 μm); 流动相: 甲醇-0.4%磷酸溶液 (1:1), 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 40℃; 检测波长: 360 nm; 进样量: 20 μL。HPLC图谱见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称定槲皮素对照品 2.0 mg, 置 10 mL量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制成含槲皮素 0.2 mg/mL的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取叶下珠粉末 2.5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇适量和 0.4% 硫酸溶

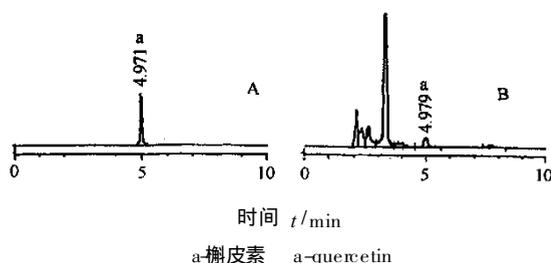


图 1 槲皮素对照品 (A) 和叶下珠供试品 (B) 的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC chromatograms of quercetin (A)

and sample of *P. urinaria* (B)

液 20 mL, 水浴加热提取至无色 (6 h), 提取液挥至约 30 mL, 放冷, 转移至 50 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.4 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作供试品溶液。

2.4 标准曲线: 精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 μL, 进样, 测定槲皮素的吸收峰峰面积, 以进样量为横坐标, 吸收峰峰面积为纵坐标作图, 得回归方程为:  $Y = 5.1 + 3723.3X$ ,  $r = 0.9999$ , 线性范围为 0.2~1.6 μg。

2.5 精密度试验: 同一供试品溶液, 取相同体积, 重复进样 6 次, 按上述条件进行测定, 其相对保留时间稳定, 峰面积 RSD=0.28%。

2.6 重现性试验: 同一批样品, 按供试品溶液制备方法平行制备 5 份, 按上述条件进行测定, 其相对保留时间稳定, 峰面积 RSD=1.7%。

2.7 稳定性试验: 在室温条件下, 将本品按测定方法处理后, 每隔 1 h 测定一次, 得峰面积的 RSD=1.26% ( $n=5$ )。结果表明在 4 h 内溶液的含量基本保持不变。

2.8 回收率试验: 取已知含量的叶下珠粉末 1 g, 精密称定, 加入一定量的槲皮素对照品, 按供试品溶液

\* 收稿日期: 2003-04-12

作者简介: 田 密 (1976-), 女, 四川省江安县人, 助理工程师, 学士 (双专业) 学位, 1999 年毕业于广州中医药大学中药学院, 现在广州奇星药业有限公司, 主要从事中药药理学工作。 Tel: 84206877

制备方法处理并进行测定,结果平均回收率为 96.82%, RSD= 1.38% ( $n= 5$ )

2.9 样品分析:按确定方法对 3 批叶下珠样品进行测定,结果见表 1

表 1 叶下珠槲皮素测定结果 ( $n= 5$ )

Table 1 Determination of quercetin in *P. urinaria* ( $n= 5$ )

样品批号	槲皮素含量 / (mg·g <sup>-1</sup> )	RSD %
1	0.419	
2	0.420	3.65
3	0.417	

### 3 讨论

3.1 提取条件的选择:曾采用 70% 乙醇提取<sup>[11]</sup>,酸水解后用醋酸乙酯萃取,甲醇定容的方法,结果槲皮素提取率低,难分离;后改用甲醇提取,酸水解后直接定容的方法,结果槲皮素提取率高且易于分离。

3.2 检测波长的选择:曾有人采用 254<sup>[12]</sup>, 360<sup>[13]</sup>, 370 nm<sup>[14]</sup> 3 个波长测定槲皮素含量,作者对 3 个波长进行了筛选。槲皮素在 254 nm 处有最大吸收,但槲皮素出峰前的杂质吸收峰较大;波长在 360 nm 处杂质吸收峰降到最低,而槲皮素仍有较大吸收,因而在确保分离度的情况下,选择了吸收较大的波长 360 nm 进行测定。

3.3 流动相的选择:实验选用甲醇-0.4% 磷酸溶液作流动相,甲醇量增大,可使出峰较好,减少拖尾;但量太大,分离效果下降。流动相中加入一定量的磷酸,可改善峰形和分离度,在保证分离度的情况下应尽量减少磷酸的用量,这样可以增加柱的稳定性和使用寿命。

3.4 柱温的选择:柱温对样品的出峰时间及分离效果有明显影响,曾采用室温, 30℃, 40℃ 的柱温,结果柱温为 40℃ 时出峰时间适宜且分离效果较好。

### References

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Gupta D R, Ahmed B, Niruriri a new prenylated flavanone glycoside from *Phyllanthus niruri* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(6): 958.
- [3] Chen X H, Hu Y M, Liao Y Q. The protective effect of Chongqing *Phyllanthus urinaria* L. on CCl<sub>4</sub> damaged hepatocyte of rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1994, 10(4): 17-18.
- [4] Pettit G R. Structure of principal antineoplastic glycosides of *Phyllanthus accuminatus* Vahl [J]. *Can J Chem*, 1983, 61: 2630.
- [5] Salyanarayana P. New seco and hydroxy-lignans from *Phyllanthus niruri* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(4): 44.
- [6] Gleye J. Alkaloids from the leaves of *Phyllanthus discodeus* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51: 1113.
- [7] Pettit G R, Schaufelberger D E, Nieman R A, et al. Anti-neoplastic agents, 177 isolation and structure of phyllanthoslation [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53: 1406.
- [8] Zhang L Z, Guo Y J, Tu G Z, et al. Study on chemical constituents of *Phyllanthus urinaria* L. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(10): 615-616.
- [9] Niu X F, Lü J X, He L C, et al. Pharmaceutical developing of Shaanxi *Phyllanthus urinaria* L. I Study on pharmacognosy [J]. *J Northwest Pharm* (西北药学杂志), 1995, 10(5): 203-206.
- [10] Liu S P, Chen S M, Zhu W D. Advance studies of biological activity of quercetin and its derivations [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(4): 182.
- [11] Li W F, Niu X F. Study on extraction process of *Phyllanthus urinaria* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(11): 819-820.
- [12] Hu Y Q, Wang Z J, Qian J R. Determination of quercetin in Changyanning Tablets by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(5): 283-284.
- [13] Xia Y Y, Jin W K, Chen Y T, et al. Determination of quercetin in Tatarian Aster (*Aster tataricus*) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(4): 207-208.
- [14] Qiao F Y, Shong A H, Liu C. Determination of quercetin in *Folium Rhododendri Daurici* by HPLC [J]. *Heilongjiang J Tradit Chin Med* (黑龙江医药), 1998, 11(2): 90-91.

## 分光光度法测定白花蛇舌草中的钛含量

陈悦娇\*

(仲恺农业技术学院 食品科学系,广东 广州 510225)

白花蛇舌草 *Hedyotis diffusa* Willd. 系茜草科耳草属植物<sup>[1]</sup>,广泛分布于亚热带地区。民间常用此草药内服治疗小儿疳疾、毒蛇咬伤、癌肿及肠道疾病。近年来临床上用于治疗多种恶性肿瘤<sup>[2]</sup>。白花蛇

舌草对淋巴细胞具有明显地刺激作用,而且能刺激巨噬细胞产生白细胞介素-6和肿瘤坏死因子,说明其有明显的免疫增强作用<sup>[3]</sup>,还能促进辐射损害的白细胞恢复<sup>[4]</sup>。在微量元素定性和半定量分析结果

\* 收稿日期: 2003-01-26

作者简介:陈悦娇(1970-),女,广东潮阳人,实验师,在职硕士研究生,主要从事食品化学与分析及保健食品研究开发工作。

Tel 89003180 E-mail cyuejia@ 263.net