

HPLC 法测定水芹中槲皮素和异鼠李素

王利胜¹, 朱盛华², 许晓峰^{1*}

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405; 2 广东岭南职业技术学院, 广东 广州 510663)

水芹为伞形科植物水芹 *Oenanthe javanica* (Bl.) DC. 的全草, 全国各地均有分布, 具有清热解毒、利水功能, 常用于治疗黄疸、水肿、疔腮等。药理研究表明, 本品具有显著的抗肝炎作用, 对乙肝病毒 (HBV) 感染性肝炎有明显的保肝降酶、利胆退黄和抗乙肝病毒作用, 尚有抗心律失常、抗过敏等作用。黄酮类化合物槲皮素、异鼠李素、蓼黄素和金丝桃素等为水芹抗肝炎主要活性成分^[1], 而对水芹质量控制的含量测定方法, 目前仅有分光光度法测定总黄酮^[2]、HPLC 法测定绿原酸的报道^[3], 尚无 HPLC 法测定水芹中黄酮类成分的报道。本研究用 HPLC 法, 对不同产地的水芹中槲皮素和异鼠李素进行含量测定, 该方法具有简便、准确、重现性好的特点, 可作为水芹药材及提取物的质量控制方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: 高效液相色谱仪: Waters 600E 泵, Waters PAD996 二极管阵列检测器; Waters Millennium³² 工作站; Shimadzu Libror AEL 40SM 天平 (日本岛津); KQ-50B 超声波清洗机 (昆山市超声设备有限公司)

1.2 药品与试剂: 槲皮素对照品 (中国药品生物制品检定所); 异鼠李素对照品 (四川省药品检验所); 水芹均购于广州市清平药材市场; 甲醇为色谱纯; 磷酸 (优级纯, 北京红星化工厂); 其他试剂为分析纯

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 迪马公司); 流动相: 甲醇-0.5% 磷酸溶液 (55: 45); 检测波长: 367 nm; 柱温: 室温; 体积流量: 1.0 mL/min。在该色谱条件下, 槲皮素和异鼠李素对照品保留时间分别约为 8.2、13.7 min, 供试品色谱中槲皮素和异鼠李素峰与杂峰分离良好。色谱图见图 1。

2.2 供试品溶液的制备: 取水芹药材粉末 (过 60 目筛) 5.0 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇 30 mL 提取 4 h, 提取液水浴蒸干, 残渣加甲醇-25% 盐

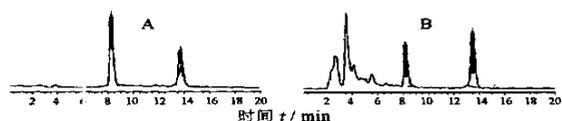


图 1 槲皮素、异鼠李素 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of quercetin, isorhamnetin (A), and sample (B)

酸 (4: 1) 溶液 20 mL 加热回流 30 min, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 滤液于 25 mL 量瓶加甲醇至刻度, 即得。
2.3 标准曲线的制备: 取对照品槲皮素 3.58 mg, 异鼠李素 2.57 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀; 精密量取 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解定容, 摇匀, 即得对照品溶液。精密吸取此对照品溶液 1.5、10、15、20、30、40 μL 进样, 以峰面积积分值 (A) 为纵坐标, 进样量 (C) 为横坐标, 回归方程为: 槲皮素 $A = 3.281318 \cdot 10^4 - 7.963.9 C$, $r = 0.9999$; 异鼠李素 $A = 2.887673 \cdot 10^4 - 8.534.5 C$, $r = 0.9999$ 。表明槲皮素在 0.036~1.432 μg, 异鼠李素在 0.026~1.028 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 取对照品溶液 10 μL 进样, 在以上色谱条件下, 进行日内、日间精密度试验。槲皮素、异鼠李素日内 RSD 分别为 0.31%、0.61% ($n = 6$); 日间 RSD 分别为 0.38%、0.68% ($n = 6$)。

2.5 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 于制备后每 2 h 测定一次, 槲皮素的 RSD 为 0.73%, 异鼠李素的 RSD 为 0.65%, 测定结果样品溶液在配制后 12 h 内稳定。

2.6 重现性试验: 取同一批药材 5 份, 分别按样品测定方法操作, 槲皮素的 RSD 为 1.34%, 异鼠李素的 RSD 为 1.42%。

2.7 加样回收试验: 精密称取已知含量的样品 5.0 g, 加入槲皮素、异鼠李素对照品, 按上述方法测定, 计算回收率。槲皮素的平均回收率为 98.67%, RSD = 1.82% ($n = 6$); 异鼠李素的平均回收率

* 收稿日期: 2004-01-16

作者简介: 王利胜 (1968-) 男, 土家族, 湖北利川人, 现任广州中医药大学中药学院讲师, 在读博士, 主要从事中药新药研究及教学工作。Tel (020) 36585416(0) E-mail wglisg@21cn.com

99.54%, RSD= 1.78% (n= 6).

2.8 样品测定:精密吸取供试品溶液 10 μ L进样,以峰面积积分值计算,结果见表 1

表 1 水芹药材中槲皮素和异鼠李素的测定结果 (n= 3)

Table 1 Quercetin and isorhamnetin in *O. javanica* (n= 3)

批号	产地	质量分数 / (mg \cdot g $^{-1}$)		RSD %	
		槲皮素	异鼠李素	槲皮素	异鼠李素
1	湖北	0.116	0.191	1.51	1.34
2	广东	0.112	0.215	1.36	1.32
3	广西	0.099	0.184	1.45	1.58
4	湖南	0.091	0.174	1.24	1.25
5	河南	0.066	0.137	1.56	1.38

3 讨论

3.1 检测波长的确定:用二级管阵列检测器分析比较了槲皮素及异鼠李素对照品色谱峰和样品所测成分相应色谱峰的紫外光谱,结果对照品和样品中槲皮素、异鼠李素均在 367 nm 处有最大吸收,故选择 367 nm 为测定波长

3.2 提取方法研究:对水芹中槲皮素、异鼠李素提取,采用超声提取法、热回流法、浸渍法、索氏提取法 4种方法,考察了不同溶媒、用量及提取时间的影响,结果提取效率差别较大,以索氏提取法对槲皮素、异鼠李素提取率最高。实验对比了甲醇-25% 盐酸 (4: 1) 与甲醇-5% 硫酸 (1: 2) 对水芹提取物的水解,结果前者水解时间短,槲皮素、异鼠李素测定结果高,故选用盐酸水解法。

3.3 对流动相的选择:实验比较了甲醇-水、甲醇-0.5% 磷酸溶液、乙腈-0.4% 磷酸溶液的不同比例的流动相^[4-6],结果发现甲醇-0.5% 磷酸 (55: 45) 效果较好。

3.4 含量测定结果表明,不同产地的水芹中槲皮素、异鼠李素含量均较低,以广东、湖北产水芹含量稍高,但各产地黄酮类成分含量相差不大。另外异鼠李素含量普遍高于槲皮素,且多结合成苷,故测定槲皮素、异鼠李素含量时,必须水解处理

References

- [1] Huang Z M, Yang X B, Cao W B, et al. Modern studies and application of *O. javanica* [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药理学学报), 2001, 17(5): 266-269.
- [2] Yin J. *Modern Study and Clinical Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与临床应用) [M]. Beijing: Ancient Books of Chinese Medical Publishing House, 1997.
- [3] Cao W B, Huang Z M, Yang X B, et al. Determination of chlorogenic acid in *O. javanica* by HPLC [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药理学学报), 2002, 18(5): 304-306.
- [4] Yang L H, Wu P E, Wang T Z. Determination of quercetin and isorhamnetin in sham extracts by RP-HPLC [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志), 2002, 17(2): 110-113.
- [5] Weng S W, Lai J H. Determination of quercetin and isorhamnetin in Xindakang Capsules by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(2): 131-132.
- [6] Xing J B, Shui C H, Liu Y. Determination of quercetin in the *Herba Euphorbiae Humifusae* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(10): 758-760.

贯众与其混用品大贯众 (杪椌) 的鉴别

薛 漓*

(广西梧州药品检验所, 广西 梧州 543002)

贯众为较常用中药,具有清热解毒、驱虫的功能^[1]。中医传统还有驱邪除疫之说。商品贯众为多种蕨类植物的带叶柄的干燥根茎。据统计其原植物有 5科 31种,其中除《中华人民共和国药典》2000年版收载的绵马贯众外,紫萁贯众、苏铁蕨贯众、狗脊贯众、荚果贯众等在全国不同地区习用^[2-4]。2003年“非典”疫情流行之际,贯众药材用量急增,市场上曾一度脱销。笔者在对防治“非典”有关药物的专项检查过程中发现一种新的贯众混用品,当地称之为“人头蕨”,经笔者鉴定为杪椌科植物杪椌 *Cyathea*

spinulosa Wall. 的茎干,又名龙骨风、大贯众。为了正本清源,保证用药安全有效,笔者对大贯众 (杪椌) 与《中华人民共和国药典》收载的绵马贯众和广西地区习用的苏铁蕨贯众进行了药材性状、理化鉴别及紫外光谱的比较。

1 仪器与材料

日本岛津 UV-265FW 分光光度计, 2537AUY-1型三用紫外分析仪 (上海顾光村光电仪器厂)

绵马贯众 (A), 为乌毛蕨科植物粗茎鳞毛蕨

* 收稿日期: 2004-01-13