

翻白草中黄酮类化合物的液相色谱分析

孟令云¹, 杨玲¹, 王佳祥², 才秀颖¹, 吴百杰³

(1. 哈尔滨市职工医学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江省分析测试中心, 黑龙江 哈尔滨 150050; 3. 黑龙江卫生学校, 黑龙江 哈尔滨 150030)

翻白草又名鸡腿儿, 为蔷薇科植物翻白草 *Potentilla discolor* Bunge 的干燥全草, 多年生草本。其资源丰富, 遍及全国各地, 生于丘陵坡地, 山野草丛中^[1]。《草木便方》等均报道其有清热、凉血解毒、止血、消肿的功效。现代医学研究表明其有抗菌、止泻和免疫增强作用。全草含鞣质, 根含鞣质 0.04%、淀粉 37%。《东北药用植物》中报道其“植株各部分均为黄酮类化合物”。本实验用 HPLC 法对翻白草中黄酮类化合物的含量进行测定, 为研究翻白草的抗炎、降血糖的药理作用寻找科学依据。

1 仪器与材料

Waters—600 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters—2487 紫外检测器(美国 Waters 公司); 威玛色谱工作站; 水为超纯水; 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。槲皮素(Sigma 公司)。翻白草样品见表 1。

表 1 翻白草中槲皮素含量测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of quercetin in *P. discolor* ($n=3$)

编号	药材来源	槲皮素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
1 [#]	吉林市药材公司	93.67
2 [#]	哈尔滨市药材公司	104.47
3 [#]	石家庄市药材公司	68.34
4 [#]	天津市药材公司	72.81

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-甲酸 (50 : 48 : 2); 体积流量 1.00 mL/min; 进样量 20 μL ; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 368 nm; 灵敏度: 0.200 0AUFS。

2.2 供试品溶液制备: 将供试样品干燥后粉碎混匀, 准确称取 25 g, 加 50% 乙醇 200 mL 回流提取 3 h, 抽滤, 将

滤液转移至 250 mL 容量瓶中, 用 10 mL 50% 乙醇溶液清洗抽滤瓶 3 次, 最后用 50% 乙醇溶液稀释至刻度。

2.3 标准曲线制备: 称取对照品槲皮素 0.054 0 g, 用 50% 乙醇溶解并稀释至 50 mL, 准确吸取此溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 用 50% 乙醇稀释至 10 mL, 配成质量浓度为 0、21.6、43.2、64.8、86.4、108.0 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。在上述色谱条件下进行测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为: $Y = -44\,774.381\,0 + 25\,266.291\,0 X$, $r = 0.998\,8$ 。结果表明: 槲皮素在 21.6~108.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

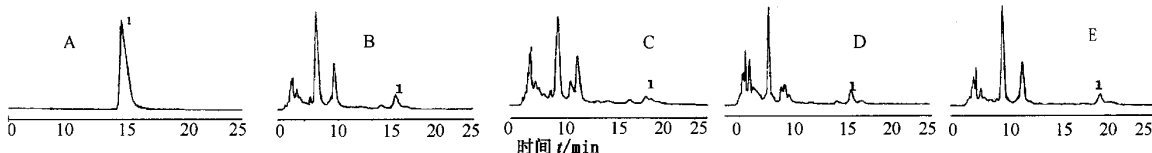
2.4 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 (0.0453 mg/mL) 重复进样 6 次, 每次 20 μL , 按上述色谱条件测定, 槲皮素峰面积积分值的 RSD 为 0.29%。

2.5 重现性试验: 精密称取 1[#] 样品 5 份, 每份 25 g, 依法制备供试品溶液进行测定, 其峰面积积分值的 RSD 为 0.63%。

2.6 稳定性试验: 取 1[#] 样品供试品溶液, 每隔 1 h 进样 1 次, 共进样 6 次, 按上述色谱条件分别测定, 峰面积积分值的 RSD 为 1.05% ($n=6$)。

2.7 加样回收率试验: 精确称取已测槲皮素含量样品 (1[#]) 5 份各 10 g, 分别精密加入槲皮素对照液 1、2、3、4、5 mL, 按样品制备方法制备, 稀释至 100 mL, 按上述色谱条件测定, 结果槲皮素平均回收率为 98.86% ($n=5$)。

2.8 样品的测定: 分别精密吸取对照品和供试品各 20 μL 注入液相色谱仪中, 依法测定, 计算样品中槲皮素的含量。测定结果见表 1, 各样品高效液相色谱图见图 1。

图 1 对照品(A)、1[#]样品(B)、2[#]样品(C)、3[#]样品(D)和 4[#]样品(E)HPLC 图谱Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance (A), sample 1[#] (B), sample 2[#] (C), sample 3[#] (D), and sample 4[#]

收稿日期: 2004-05-09

基金项目: 哈尔滨市科技攻关计划基金资助项目 (0114211135-17)

作者简介: 孟令云 (1949—), 女, 哈尔滨人, 生物化学教授, 中华医学微量元素学会理事, 研究方向为糖尿病生化药理学。

Tel: (0451) 82062400 E-mail: Meng lingyun 557@sohu.com

3 讨论

从测定结果看,4种产地的翻白草的样品均含有槲皮素,因地域不同,含量各异。4种翻白草中槲皮素质量分数在69.5~105.72 $\mu\text{g/g}$,平均质量分数85.4875 $\mu\text{g/g}$,说明翻白草植株各部分均含黄酮类化合物槲皮素。黄酮类化合物中的槲皮素有抑制非酶糖化作用^[2],并通过抑制蛋白糖化来抑制醛糖还原酶活性,有降血糖作用。本实验测定出翻白草中

黄酮类化合物槲皮素含量,为进一步研究翻白草可能的降糖作用提供了科学依据。

References:

- [1] Yang J, Qing J H. Identify and research on *Potentilla discolor* Bunge [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药) 1998, 9(5): 436.
- [2] Chen Y, Zhang Q. Recent situation for pharmacology research on five-hydroxyly yellow keton [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(8): 569-570.

RP-HPLC 法测定地骨皮中香草酸的含量

李 康,陈晓辉,毕开顺

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

地骨皮为茄科植物枸杞 *Lycium chinese* Mill. 或宁夏枸杞 *L. barbarum* L. 的干燥根皮。气微、味微甘而后苦,具有凉血除蒸、清肺降火的功效,主治阴虚潮热、骨蒸盗汗、肺热咳嗽、咯血、衄血、内热消渴等^[1]。但关于地骨皮药材中成分的分离与测定的报道不多。本实验用 RP-HPLC 法首次分离并测定了不同产地地骨皮药材中香草酸的含量,方法简便快速、灵敏准确,为该药材的质量评价提供参考依据。

1 仪器与试剂

2010A 型高效液相色谱仪 (Shimadzu), Class-VP 色谱数据处理系统。

地骨皮药材购于各地药店,均由沈阳药科大学孙启时教授鉴定。

香草酸对照品(中国药品生物制品检定所),色谱乙腈(天津四友公司),水(二次蒸馏水),冰醋酸(分析纯),色谱甲醇(天津康科德科技有限公司),95%乙醇(沈阳卫龙商贸有限公司),分析甲醇(天津康科德科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Diamonsil C_{18} 色谱柱 (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-1%冰醋酸水溶液 (10:90, pH=3); 体积流量为 0.8 mL/min, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。检测波长为 260 nm。香草酸在此条件下有较好分离, 色谱行为见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取香草酸 6.1 mg, 甲醇溶解于 10 mL 量瓶中, 吸取 2.0 mL 于 100 mL

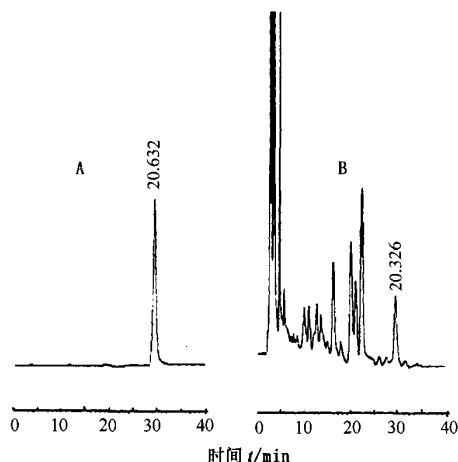


图1 对照品(A)和样品(B)HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance (A) and sample (B)

量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成 12.2 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取各地药材约 1 g, 用甲醇 100 mL 索氏提取 30 min, 减压回收溶剂, 残渣用甲醇溶解至 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 即得。各产地均做一平行样。

2.4 标准曲线的制备: 分别精密吸取对照品溶液 0.10、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL, 置 5 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 进样 10 μL , 测定峰面积。以峰面积平均值为纵坐标, 其对应进样质量浓度为横坐标, 进行回归计算, 得线性方程为

收稿日期: 2004-05-10

作者简介: 李 康 (1975—), 男, 四川人, 在读博士, 沈阳药科大学药物分析专业, 主要从事中药现代化研究。

Tel: (024) 23843711-3363 E-mail: likang229@sohu.com