

高效液相色谱法测定贵州苦荞麦中槲皮素的含量

方玲芬,徐洪,林开中(贵州省药品检验所,贵阳 550004)

摘要:目的 研究贵州苦荞麦中槲皮素含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法测定贵州苦荞麦中槲皮素含量。色谱柱为 Diamonsi™ C₁₈ 5μm, 250mm × 4.6mm, 流动相为甲醇-0.4%磷酸(50:50), 检测波长为 360nm。结果 线性关系良好, 平均加样回收率为 99.85%, RSD=0.37%。结论 本法快速、简便, 结果准确。

关键词: 高效液相色谱法; 贵州苦荞麦; 槲皮素

中图分类号: R917.799.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)05-0383-02

Determination of quercetin in the seeds of *Polygonum tataricum* by HPLC

FANG Ling-fen, XU Hong, LIN Kai-zhong (Guizhou Institute for Drug Control, Guiyang 550004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method to determine quercetin in the seeds of *Polygonum tataricum*. **METHODS** An HPLC method was applied, using methanol-0.4% phosphoric acid(50:50) as mobile phase with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, and the UV detection wavelength was 360nm and the chromatographic column was Diamonsi™ C₁₈ 5μm, 250mm × 4.6mm. **RESULTS** The calibration curve was linear over the range of 8.816μg ~ 79.344μg (r=0.9999), the average recovery of the method was 99.85%, RSD=0.37% (n=5). **CONCLUSION** The method is rapid, simple and accurate.

KEY WORDS: HPLC; *Polygonum tataricum*; quercetin

苦荞麦 *Polygonum tataricum* Linn. 属蓼科植物, 俗称苦荞。苦荞麦性味苦、平、寒, 有益气力, 续精神, 利耳目, 有降气宽肠健胃的作用。除可供食用外, 据资料报道苦荞麦中所含的主要有效成分槲皮素具有很好的祛痰、止咳、降低血压、增强毛细血管抵抗力、调节血脂、抗过敏等作用^[5]。关于苦荞麦开发利用在诸多文献资料中屡见报道, 但来源丰富的贵州产苦荞麦的成分分析未见报道, 笔者采用高效液相色谱法建立了贵州地区产苦荞麦^[1]中槲皮素的含量测定方法。

1 材料与仪器

1.1 材料

贵州苦荞麦种子经粉碎, 过二号(24目)标准筛, 取粉即得; 槲皮素对照品(批号: 100081-200406 供含量测定用于 120℃干燥 4h 后用 UV 法含量测定按 100% 计 HPLC 法按 97.3% 计) 由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯。

1.2 仪器

作者简介: 方玲芬, 副主任药师。Tel: (0851) 6807163, E-mail: fanglingfen@qq.com

LC-2010A_{HT}高效液相色谱仪, LCsolution色谱工作站。

2 方法^[2-4]与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: DiamonsiTM C₁₈ 5μm, 250mm × 4.6mm; 流动相: 甲醇-0.4%磷酸(50:50); 流速: 1mL/min; 检测波长: 360nm; 柱温: 30℃; 理论板数: 按槲皮素峰计算应不低于2000; 分离度: 应不小于1.5。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取经120℃干燥4h的槲皮素对照品适量, 加甲醇制成每1mL中含0.04mg的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 样品提取条件的优化试验

精密称取贵州苦荞麦粉约1g, 共8份, 分别精密加入乙醇-25%盐酸(4:1)溶液25mL及甲醇-25%盐酸(4:1)溶液25mL, 称定重量, 按表1“处理方法”栏依次处理样品, 补液后, 滤过, 精密吸取续滤液3mL, 置25mL量瓶中并用甲醇定容, 用0.45μm微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得优化试验供试液。精密量取对照品溶液及上述8份样品溶液各10μL, 分别进样, 记录色谱, 按外标法计算。结果见表1。

表1 样品优化试验结果

Tab 1 The results of excellent tum to tests

序号	提取液组成、比例及用量	处理方法	时间	含量
1	乙醇-25%盐酸(4:1)25mL	水浴回流	30min	3.723
2	乙醇-25%盐酸(4:1)25mL	水浴回流	1h	4.890
3	甲醇-25%盐酸(4:1)25mL	水浴回流	30min	7.102
4	甲醇-25%盐酸(4:1)25mL	水浴回流	1h	7.659
5	乙醇-25%盐酸(4:1)25mL	超声提取	30min	2.321
6	乙醇-25%盐酸(4:1)25mL	超声提取	1h	3.286
7	甲醇-25%盐酸(4:1)25mL	超声提取	30min	5.337
8	甲醇-25%盐酸(4:1)25mL	超声提取	1h	5.928

2.3.2 供试品溶液的制备方法 精密称取贵州苦荞麦粉1g, 精密加入甲醇-25%盐酸(4:1)溶液25mL, 称定重量, 置水浴中回流1h, 冷却, 用提取液补足重量, 滤过, 精密吸取续滤液3mL置25mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用0.45μm微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系

精密量取槲皮素对照品溶液(0.04408mg·mL⁻¹)2, 6, 10, 14, 18μL分别进样, 记录色谱, 以进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 作图, 计算得回归方程: $Y = 3810066.92377X + 13234.30000$, $r = 0.99992$, 表明槲皮素0.08816mg~0.79344mg范围内有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取对照品溶液10μL, 重复进样5次, 记录色谱, 计算, RSD值为0.27%。

2.6 重复性试验

精密称取贵州苦荞粉5份, 按“供试品溶液的制备”项下所述方法, 制备5份供试品溶液, 分别进样, 记录色谱, 计算, 平均含量为7.656mg·g⁻¹, RSD值为0.87%。

2.7 稳定性

取室温下供试品溶液10μL分别于0, 2, 4, 6, 8h进样, 记录色谱, 计算, RSD值为0.33%。

2.8 加样回收率试验

精密称取贵州苦荞麦粉0.5g, 再精密加入对照品溶液(精密称取经120℃干燥4h的槲皮素对照品适量, 加甲醇制成每1mL中含4.1544mg的溶液)1mL, 挥干后, 按“供试品溶液的制备”项下操作, 取所得溶液10μL进样, 记录色谱, 计算回收率, 结果见表2, 平均回收率为99.85%, RSD为0.37%。

表2 加样回收率和精密度(n=5)

Tab 2 The result of recovery test and precision(n=5)

样品取量 (mg)	含被测组分 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
0.5024	3.8461	4.1544	7.9912	99.78
0.5004	3.8308	4.1544	8.0006	100.37
0.5093	3.8990	4.1544	8.0283	99.40
0.5061	3.8745	4.1544	8.0159	99.69
0.5034	3.8538	4.1544	8.0099	100.04

2.9 样品测定

精密称取贵州苦荞麦粉, 按“供试品溶液的制备”项下所述方法, 制备供试品溶液, 分别吸取供试品溶液与对照品溶液(0.04408mg·mL⁻¹)各10μL, 进样, 记录色谱, 测定峰面积, 计算, 结果见表2。

表3 样品测定结果

Tab 3 The results of the sample determination

样品	含量(mg·g ⁻¹)
1	7.659
2	8.008
3	8.047

3 讨论

3.1 测定波长的选择

经紫外分光光度计(UV-2550型)扫描, 对照品溶液在360nm波长处有最大吸收。

3.2 流动相比比例调节

流动相曾采用甲醇-水(47:53), 但槲皮素峰拖尾因子为0.87, 经改为甲醇-0.4%磷酸(50:50)后, 槲皮素峰峰形对称。

参考文献

- [1] 贵州植物志[M].第一卷.贵州:贵州人民出版社, 1982:207.
- [2] 贵州省药品监督管理局编.贵州中药材、民族药材质量标准[M].2003:147.
- [3] 苗明三, 李振国.现代实用中药质量控制技术[M].北京:人民卫生出版社, 2000.
- [4] 中国药典2005版.一部[S].2005:附录114.
- [5] 季宇彬.中药有效成分药理与应用[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社, 1995:389.

收稿日期:2006-01-17