

HPLC 测定地耳草中槲皮苷的含量

俞建平¹, 陈勇¹, 郑建宝² (1.浙江省药品检验所, 杭州 310004; 2.浙江中医药大学中药饮片厂, 杭州 310009)

摘要: 目的 测定地耳草中槲皮苷的含量。方法 采用高效液相色谱法, Agilent C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(19:81), 检测波长为 256 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果 槲皮苷进样量在 0.120 4 ~ 2.408 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 96.0%, RSD=1.3%(n=6)。结论 该方法快速简便, 稳定可靠, 专属性强。

关键词: 高效液相色谱法; 地耳草; 槲皮苷; 含量测定

中图分类号: R917.101; R917.792

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)06-0499-02

Determination of Quercitrin in *Hypericum japonicum* Thunb. by HPLC

YU Jianping¹, CHEN Yong¹, ZHENG Jianbao² (1. Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. TCM for Decoction Factory of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of quercitrin in *Hypericum japonicum* Thunb. by HPLC. **METHODS** An Agilent C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile was acetonitrile-0.05 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate(19:81), and detected at 256 nm with flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** A good linearity was observed for quercitrin in the range of 0.120 4-2.408 μg. The average recovery of quercitrin was 96.0% with RSD of 1.3%(n=6). **CONCLUSION** The method is convenient, stable, reliable and special for the dermination of quercitrin in *Hypericum japonicum* Thunb..

KEY WORDS: HPLC; *Hypericum japonicum* Thunb.; quercitrin; content determination

地耳草为藤黄科植物地耳草 *Hypericum japonicum* Thunb. 的干燥全草。地耳草性味苦、辛、平。有清利湿热, 散瘀消肿的作用。其主要成分为黄酮、黄烷醇及其苷类和间苯三酚衍生物, 而黄酮类成分主要为槲皮苷^[1-2]。槲皮苷具有很好的抗病毒、抗炎、利尿等作用。目前有报道测定地耳草中黄酮苷元槲皮素的含量^[3], 而关于其主要成分槲皮苷的分析未见报道, 笔者采用高效液相色谱法建立地耳草中槲皮苷的含量测定方法。

1 仪器与试剂

惠普 HP1100 系列液相色谱仪(自动进样分析)。槲皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111538-200403, 供含量测定用)。乙腈(Merck, 色谱纯), 水(重蒸水), 其他试剂均为分析纯。地耳草药材为笔者收集 5 批市场流通药材商品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(19:81); 检测波长为 256 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹;

柱温 25 °C; 样品进样量为 10 μL。理论板数按槲皮苷峰计应不低于 3 000。对照品、样品色谱图见图 1。

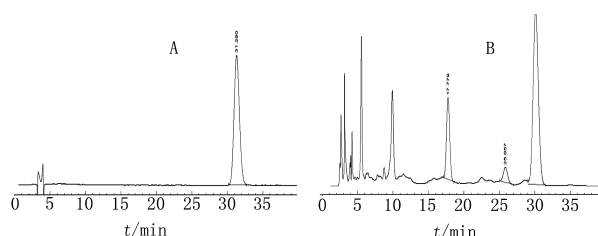


图 1 对照品(A)、样品(B)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference(A) and sample(B)

2.2 供试品溶液的制备

取本品粉末 1 g, 精密称定, 置具塞三角烧瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 称重, 超声处理 30 min, 放冷, 称重, 加乙醇补足重量, 滤过, 取续滤液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。

2.3 线性关系考察

精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的槲皮苷对照品适量, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.120 4 mg 的溶液作为对照品溶液。

精密吸取上述槲皮苷对照品液 1, 5, 10, 15, 20 μL , 按上述色谱条件测定峰面积, 以进样量(X)对峰面积(Y)进行线性回归, 求得回归方程: $Y=2.800\ 3\ X+1.916\ 2$, $r=1.000$ 。槲皮苷在 0.120 4 ~ 2.408 μg 内呈良好的线性关系。

2.4 仪器精密度试验

取同一供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定槲皮苷的峰面积, 结果 $RSD=0.9\%(n=6)$, 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一供试品溶液, 间隔一定时间测定 1 次,

表 1 回收率试验 ($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=6$)

取样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.502 0	1.877 5	1.848 0	3.691 7	98.2	96.0	1.3
0.504 5	1.886 8	1.848 0	3.648 5	95.3		
0.502 0	1.877 5	1.848 0	3.634 7	95.1		
0.509 0	1.903 7	1.848 0	3.660 0	95.0		
0.501 1	1.874 1	1.848 0	3.645 0	95.8		
0.502 3	1.878 6	1.848 0	3.668 0	96.8		

2.8 样品含量测定

取 5 批地耳草药材, 按“2.2”项下方法处理, 分别精密量取供试品溶液与对照品溶液各 10 μL , 进样, 记录色谱图, 测定峰面积, 计算, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果($n=2$)

Tab 2 Results of sample determination($n=2$)

样品	来源	含量/%
1	浙江中医药大学中药饮片厂	0.374
2	杭州老百姓大药房有限公司	0.270
3	杭州天天好大药房有限公司	0.202
4	杭州九州大药房有限公司	0.192
5	杭州武林药店	0.159

3 讨论

检测波长的选择:取每 1 mL 含槲皮苷 30.1 μg 的对照品溶液, 用 UV-260 紫外分光光度计(岛津)在 200~400 nm 处扫描, 槲皮苷在 256 nm 波长处有最大吸收, 故选择 256 nm 为测定波长。

结果峰面积 $RSD=1.0\%(n=6)$, 表明供试品溶液在 30 h 内基本稳定。

2.6 重复性试验

取同一地耳草药材样品 6 份, 按“2.2”项下方法处理, 进样测定, 结果槲皮苷平均含量为 0.374%, $RSD=1.3\%(n=6)$, 表明方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的地耳草药材适量, 精密加入一定量的槲皮苷对照品, 依本法进行含量测定并计算回收率, 结果平均回收率为 96.0%, $RSD=1.3\%(n=6)$, 结果见表 1。

以其有效成分槲皮苷含量为指标, 通过对多批市场流通的地耳草药材测定, 了解地耳草药材的内在质量情况, 发现不同批次地耳草药材的槲皮苷含量相差较大, 其原因是可能产地差异或炮制加工不同, 需进一步研究。

REFERENCES

[1] GAO Y H, YANG Y H. Chemical constituents and pharmacy activities of *Hypericum japonicum* [J]. World Notes Plant Med(国外医药植物药分册), 2005, 20(3): 102-112.

[2] XIN Y Z, ZHANG X C, TANG W Z. The study progress on the Chemical constituents and pharmacy activities of *Hypericum japonicum* [J]. Shandong Pharm Ind(山东医药工业). 2003, 22(2): 28-29.

[3] TIANG G, PENG G P. Determination of quercetin in *Hypericum japonicum* Thunb. by HPLC[J]. China J Chin Mater Med(中药材), 2004, 29(5): 476-478.

收稿日期: 2008-08-11

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅