

HPLC 测定不同产地罗勒中芦丁和槲皮素的含量

陈良¹, 徐晓琴¹, 凯撒·苏来曼², 姜林^{1*} (1.新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆维吾尔自治区民族药物研究所, 乌鲁木齐 830002)

摘要: 目的 建立罗勒中芦丁和槲皮素的含量测定方法, 并对不同产地药材进行含量测定。方法 采用高效液相色谱法将罗勒中芦丁和槲皮素进行测定; 芦丁的流动相为乙腈-0.4%磷酸(18:82), 槲皮素的流动相为乙腈-0.4%磷酸(32:68); 检测波长均为 360 nm; 流速均为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温均为 30 °C。结果 芦丁的线性范围为 4.95~24.75 µg($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 100.7%, RSD=1.62%($n=6$)。槲皮素的线性范围为 1.792~8.064 µg($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 98.3%, RSD 为 0.94%($n=6$)。不同产地罗勒药材中芦丁和槲皮素的含量分别在 0.39~0.71 mg·g⁻¹ 和 0.29~0.58 mg·g⁻¹ 之间。结论 本法专属性强, 重复性好, 结果准确可靠, 可作为罗勒的质量控制方法。

关键词: 罗勒; 芦丁; 槲皮素; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)04-0344-03

Determination of Rutin and Quercetin in Ocimi Herba from Different Places by HPLC

CHEN Liang¹, XU Xiaoqin¹, KAISA Suerman², JIANG Lin^{1*} (1.Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China; 2.Xinjiang Institute of Chinese Materia Medica and Ethnodrug, Urumqi 830002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of the contents of rutin and quercetin in Ocimi Herba, and to determine the contents of rutin and quercetin in Ocimi Herba from different places. **METHODS** The contents of rutin and quercetin in Ocimi Herba were determined by HPLC. The rutin was determined by using mobile phase consisted of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solvent(18:82), the quercetin was determined by using mobile phase consisted of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solvent (32:68). All the UV wavelength was 360 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was 30 °C. **RESULTS** The linear range of rutin was 4.952~4.750 µg($r=0.999\ 7$) with a mean recovery of 100.7% and RSD 1.62%($n=6$). The linear range of quercetin was 1.792~8.064 µg($r=0.999\ 7$) with a mean recovery of 98.3%, RSD 0.94%($n=6$). The contents of rutin and quercetin in Ocimi Herba from different places were within the range of 0.39~0.71 mg·g⁻¹ and 0.29~0.58 mg·g⁻¹. **CONCLUSION** The method is specific, reliable and accurate. It can be used for the quality

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项(200733146-1)

作者简介: 陈良, 男, 硕士生, 中药师 Tel: 13579832835
Tel: 15999131684 E-mail: jianglinjjj@163.com

E-mail: zzqzyyyyscl@sina.com

*通信作者: 姜林, 男, 硕士, 副教授

control of *Ocimi Herba* effectively.

KEY WORDS: *Ocimi Herba*; rutin; quercetin; HPLC

罗勒(*Ocimum basilicum* L.)是维吾尔医和民间的习用名称,是唇形科植物罗勒的地上部分;在我国主要分布于新疆、云南、四川、广东、广西等地,而在国外主要分布于印度、沙特阿拉伯、巴西及非洲等地。维吾尔医认为其功效为调节异常黏液质、开通阻滞、开窍、苏醒、安神强心、祛风散肿、祛痰、止泻止痢。新疆民间常用于心悸失眠、咳嗽哮喘、脾胃湿寒、口腔炎、目赤流泪、心悸抑郁、瘫痪、关节疼痛、尿路结石、催乳、浮肿等。为了控制该药材质量,笔者建立了高效液相色谱法测定罗勒药材中芦丁和槲皮素含量的方法,并测定了不同产地罗勒药材中芦丁和槲皮素的含量差异,为罗勒的进一步开发研究奠定了基础。

1 仪器和试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪(Waters 2996 二极管阵列检测器,美国 Waters 公司); AL204 电子天平、AG135 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; Direct-QTM 超纯水仪(Millipore)。

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100080-200707,纯度:100%);槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100081-200406,纯度:100%);不同产地的罗勒药材由新疆维吾尔自治区民族药物研究所提供;甲醇、乙腈均为色谱纯;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1-2]

色谱柱: Symmetry shield Rp18 柱(3.9 mm×150 mm, 5 μm); 芦丁的流动相为乙腈-0.4%磷酸(18:82),槲皮素的流动相为乙腈-0.4%磷酸(32:68);检测波长均为 360 nm;流速均为 1 mL·min⁻¹,柱温均为 30 ℃,进样量均为 10 μL。

2.2 对照品溶液制备

取干燥恒重芦丁和槲皮素对照品适量,精密称定,加入甲醇制成浓度分别为 24.75 μg·mL⁻¹和 8.046 μg·mL⁻¹的溶液,即得芦丁及槲皮素对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

取罗勒药材适量,研细,精密称定 2.0 g,置 50 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声提取 60 min,放冷,称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得芦丁和槲皮素供试品溶液。

2.4 专属性考察

分别取芦丁和槲皮素的对照品溶液、供试品溶液各 10 μL,按“2.1”项下色谱条件测定,结果见图 1。芦丁、槲皮素的理论板数均大于 3 000,分离度均大于 1.5,拖尾因子均在 0.95~1.05 之间,符合中国药典 2010 年版规定要求。

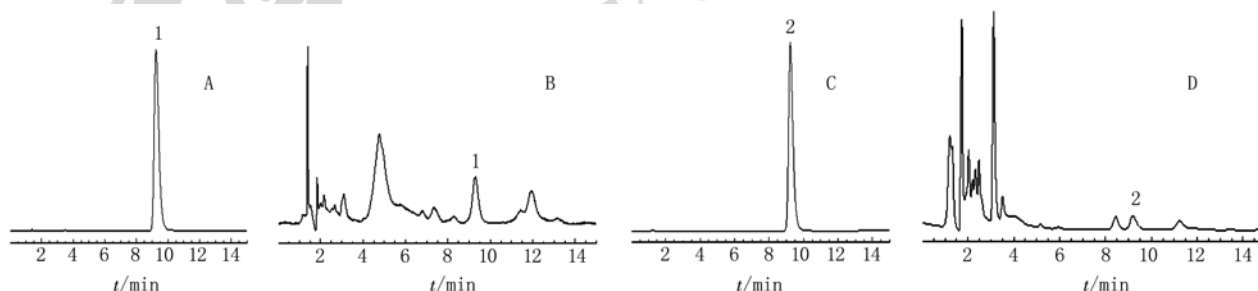


图 1 高效液相色谱图

A—芦丁对照品; B, D—样品; C—槲皮素对照品; 1—芦丁; 2—槲皮素

A, B 的流动相为乙腈-0.4%磷酸(18:82); C, D 的流动相为乙腈-0.4%磷酸(32:68)

Fig 1 HPLC chromatograms

A—rutin reference substance; B, D—sample; C—quercetin reference substance; 1—rutin; 2—quercetin

A, B: mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solvent (18:82); C, D: mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solvent (32:68)

2.5 线性关系考察

取“2.2”项下芦丁及槲皮素对照品液,分别精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积积分值对进样量进行回归,

得芦丁回归方程 $C=4.330 \times 10^{-5}A-1.1041$, $r=0.9997$,结果表明芦丁进样量在 4.95~24.75 μg 内与峰面积呈良好的线性关系;槲皮素回归方程 $C=2.587 \times 10^{-5}A+0.2241$, $r=0.9997$,结果表明槲

皮素进样量在 1.792~8.064 μg 内与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 仪器精密性试验

取罗勒供试品溶液,连续进样 5 次,结果芦丁峰面积的 RSD 为 1.95%,槲皮素峰面积的 RSD 为 1.64%。

2.7 重复性试验

同一批罗勒分别制成 5 份供试品溶液,进样测定,结果芦丁含量的 RSD 为 1.24%,槲皮素含量的 RSD 为 1.68%。

2.8 稳定性试验

取罗勒供试品溶液,每隔 24 h 进样一次,共 5 次,结果芦丁、槲皮素的 RSD 分别为 1.74%和 1.15%。结果表明芦丁、槲皮素供试液在 5 d 内是稳定的。

2.9 回收率试验

2.9.1 芦丁回收率的测定 精密称取供试品约 2 g,共 9 份,分别置 50 mL 锥形瓶中,第 1 组 3 份作为样品基准液,其余 6 份分别加入芦丁对照品、甲醇 25 mL,按“2.4”项下方法处理后,进样测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test (n=6)

已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
3.935	4.831	8.807	100.8	100.7	1.62
3.935	4.831	8.892	102.6		
3.935	4.831	8.680	98.2		
3.935	4.831	8.779	100.1		
3.935	4.831	8.876	102.3		
3.935	4.831	8.761	99.9		

2.9.2 槲皮素回收率的测定 精密称取供试品约 2 g,共 9 份,分别置 50 mL 锥形瓶中,第 1 组 3 份作为样品基准液,其余 6 份分别加入槲皮素对照品、甲醇 25 mL,按“2.4”项下方法处理后,进样测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery test(n=6)

已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
3.700	3.683	7.363	99.5	98.3	0.94
3.700	3.683	7.299	97.7		
3.700	3.683	7.322	98.3		
3.700	3.683	7.356	99.3		
3.700	3.683	7.291	97.5		
3.700	3.683	7.289	97.4		

2.10 样品的含量测定

取不同产地的罗勒药材,按上述方法测定,结果见表 3。

表 3 不同产地的罗勒药材中芦丁和槲皮素含量测定结果(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Content determination results of rutin and quercetin in Ocimi Herba from different places(n=3, $\bar{x} \pm s$)

产地	芦丁含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	槲皮素含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
新疆阜康	0.417 $\pm$ 0.006	0.313 $\pm$ 0.006
新疆吉木萨尔	0.447 $\pm$ 0.006	0.353 $\pm$ 0.006
新疆喀什	0.580 $\pm$ 0.010	0.413 $\pm$ 0.006
新疆民丰县	0.613 $\pm$ 0.006	0.490 $\pm$ 0.000
新疆疏勒	0.713 $\pm$ 0.006	0.577 $\pm$ 0.006
新疆于田县	0.660 $\pm$ 0.010	0.443 $\pm$ 0.006
新疆墨于县	0.470 $\pm$ 0.010	0.383 $\pm$ 0.006
巴基斯坦	0.393 $\pm$ 0.006	0.293 $\pm$ 0.006

3 讨论

为了同时测定芦丁和槲皮素的含量,曾采用梯度洗脱,但分离结果不理想,因此采用等度洗脱。选择同一流动相进行洗脱时,由于芦丁和槲皮素极性差别较大,出峰时间较长,柱效较低,故将两者用不同流动相测定。

马雅斌等^[3-4]分别测定了罗勒中芦丁含量,结果分别约为 0.2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 25 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,而本试验结果表明罗勒中芦丁的含量在 0.39~0.71 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间,这可能与罗勒的种植地区和采集时间不同有关。

国内已有学者采用 GC-MS 分析了罗勒中挥发油的化学成分^[5-6],现有文献只测定了罗勒中芦丁的含量^[1-4],而本试验建立了 HPLC 测定罗勒中芦丁和槲皮素含量的方法,为罗勒的进一步研究提供实验依据。

REFERENCES

- [1] YIN F, HU L H, LOU F C. Research of the chemical constituents of Herba Ocimi [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2004, 2(1): 20-24.
- [2] YIN F, LEI X X, LOU F C. Research of the chemical constituents of *Azadirachta indica* A. Juss [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2003, 34(8): 687-688.
- [3] MA Y B, TIAN Y, YU N. Determination of rutin in Herba Ocimi by HPLC [J]. Xinjiang J Tradit Chin Med(新疆中医药), 2008, 3(26): 74-75.
- [4] PALIDA, WANG X Q, MIRENSHA, et al. Determination of rutin in Herba Ocimi from Xinjiang by HPLC [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2007, 22(5): 235-236.
- [5] Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese Materia Medica(中药大辞典)[M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977: 1354-1355.
- [6] PALIDA, MIRENSHA, CONG Y Y, et al. Research of the chemical constituents of essential oil in Herba Ocimum from Xinjiang [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2006, 37(3): 352.

收稿日期: 2010-07-08