

· 质量分析研究 ·

高效液相色谱法测定乌药叶中槲皮苷的含量

肖梅¹, 周翔¹, 何国庆², 徐强¹, 陈婷¹(1. 南京大学生命科学学院医药生物技术国家重点实验室, 江苏南京 210093; 2. 浙江天台山乌药生物工程有限公司, 浙江天台 317200)

摘要:目的 建立高效液相色谱测定乌药叶中槲皮苷含量的方法。方法 色谱柱为 Shimpack VP-ODS 色谱柱, 流动相为乙腈-0.5%冰醋酸(20:80), 检测波长 254 nm, 柱温 40 °C, 流速 1 mL·min⁻¹。结果 槲皮苷在 1~100 μg·mL⁻¹($r=0.9999$)范围内呈现良好的线性关系; 槲皮苷回收率为 98.38%, RSD 为 1.85%; 样品溶液在 24 h 内稳定。结论 该方法测定准确、快速简单, 线性关系良好。

关键词: 乌药叶; 槲皮苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-9783(2009)03-0247-03

Determination of Quercitrin in the Leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. by HPLC

XIAO Mei¹, ZHOU Xiang¹, HE Guoqing², XU Qiang¹, CHEN Ting¹(1. State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Zhejiang Tiantaishan Wuyao Biological Engineering Co. Ltd., Tiantai 317200 Zhejiang, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of quercitrin in the leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. **Methods** The chromatographic determination of quercitrin was performed on Shimpack VP-ODS column (150 mm × 4.6 mm, 4.6 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile-0.5% glacial acetic acid aqueous solution with a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was monitored at 254 nm, and the column oven was maintained at 40 °C. **Results** The calibration curves of quercitrin were linear in the range of 1~100 μg·mL⁻¹($r=0.9999$). The average recovery of quercitrin was 98.38% (RSD = 1.85%), and the properties of sample solution kept steady within 24 hours. **Conclusion** This method is accurate, rapid, and simple, and has a good linear relationship.

Keywords: Leaves of *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm; Quercitrin; HPLC

乌药 *Lindera aggregata*(Sims) Kosterm. 为樟科 (Lauraceae)山胡椒属(Lindera)植物, 分布于江苏、浙江、台湾、福建、广东等省, 以浙江省天台县较为著名, 称天台乌药。其干燥块根入药, 性温味辛, 具有顺气止痛、温肾散寒之功效^[1]。但其叶的临床应用及药学研究较少, 文献记载乌药叶可用于治疗急性蜂窝组织炎、乳房炎及臀痛, 与益胃止痛方配伍可治疗慢性胃炎^[2]。近年, 乌药叶在医药与食品上的用途开始受到关注, 如乌药叶茶可以明显提高机体抗氧化能力^[3]。有研究报道指出乌药叶中含有黄酮、内酯等成分^[4-5], 其主要成分为槲皮苷等黄酮类化合物, 但其质量控制仍缺少较好的检测方法。本研究首次采用高效液相色谱法测定乌药叶中槲皮苷的含量, 以期为乌

药叶的质量控制提供较好地检测方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-20A 系列高效液相色谱仪(包括 CTO-10ASVP 色谱柱温箱、CBM-20Alite 系统控制器、SPD-M20AV 检测器、LC-20AD 送液泵、LC-solution 工作站), Sartorius 十万分之一电子天平, KQ-100B 超声波清洗仪。

槲皮苷对照品(购自中国药品生物制品检定所, 批号为 111538-200302); 乌药叶由浙江天台山乌药生物有限公司提供, 采自浙江省天台县三州乡, 经鉴定为 *Lindera aggregata*(Sims) Kosterm. 的叶; 乙腈(DikmaPure, HPLC 级), 冰乙酸(分析纯), 甲醇

收稿日期: 2008-09-25

作者简介: 肖梅(1984-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物活性成分研究。通讯作者: 陈婷, Tel: 025-83686786, Email: chenting_nju@163.com

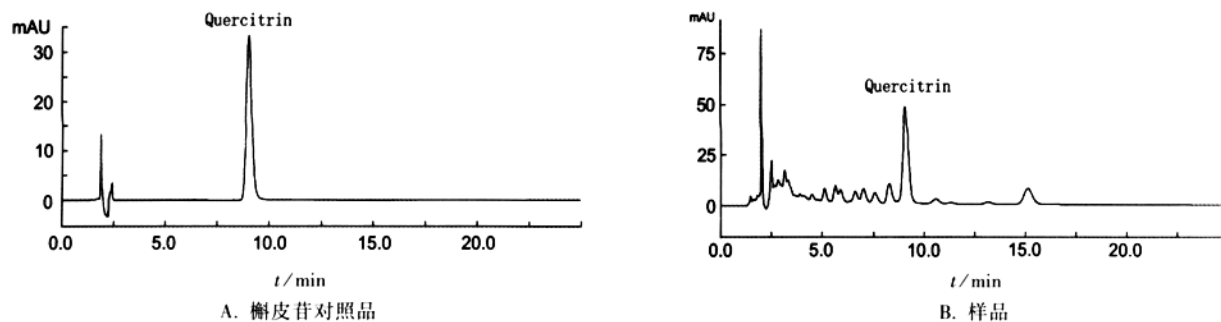


图1 乌药叶的HPLC图谱

(分析纯), 双蒸水。

2 方法及结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Shimpack VP-ODS 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 4.6 μm); 流动相: 乙腈-0.5% 冰乙酸 (20:80); 检测波长: 254 nm; 流速: 1 mL · min⁻¹; 柱温: 40 °C; 进样量: 5 μL; 分析时间: 25 min。在上述色谱条件下, 色谱图见图 1。

2.2 溶液制备 精密称取槲皮苷对照品 50.00 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 即得 1.00 mg · mL⁻¹ 槲皮苷对照品储备液。精密量取槲皮苷对照品储备液 5 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 得 0.20 mg · mL⁻¹ 的槲皮苷对照品溶液。

精密称取乌药叶粉末 1 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 100 mL 的 70% 乙醇回流提取 1 h, 过滤, 置 100 mL 容量瓶中, 放置至室温, 定容, 摇匀后过 0.45 μm 滤膜, 取滤液作为供试品溶液。

2.3 线性关系试验 精密吸取 0.20 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液 0.05, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 即得到系列对照品溶液。分别取上述系列对照品溶液 5 μL 进样, 测定峰面积, 以对照品进样浓度 (μg · mL⁻¹) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 做线性回归。得到槲皮苷回归方程为: $Y = 18266.01X - 802.96$, $r = 0.9999$, 线性范围: 1 ~ 100 μg · mL⁻¹。

2.4 精密度试验 将“2.3”项中第 5 号溶液连续进样 6 次, 每次 5 μL, 测定槲皮苷的峰面积, 其 RSD 为 0.98%, 表明进样精密度良好。

2.5 检测限试验 在选定的色谱条件下, 按信噪比为 3 的设定, 对最低检测限进行测定。结果表明: 浓度为 0.1092 μg · mL⁻¹, 进样量为 5 μL 时, 槲皮苷峰信号约为噪音的 3 倍, 即最低检测限为 0.5460 ng。

2.6 定量限试验 在选定的色谱条件下, 按信噪比为 10 的设定, 对最低定量限进行测定。结果表明:

浓度为 0.336 μg · mL⁻¹, 进样量为 5 μL 时, 主产物信号约为噪音的 10 倍, 即最低定量限为 1.680 ng。

2.7 重复性试验 按“2.2”项下方法制备乌药叶样品溶液 6 份, 每次进样 5 μL, 测定槲皮苷的峰面积, 计算含量, RSD 为 0.82%。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进样测定, 槲皮苷峰面积的 RSD 为 1.80%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 回收率试验 精密称取已测定含量的乌药叶粉末样品 (批号 070321) 0.5 g, 共 6 份, 分别准确加入浓度为 1.00 mg · mL⁻¹ 的槲皮苷储备液 2.7 mL, 混合后, 按 2.2 项供试液制备方法制备回收试验液, 测定含量, 计算出槲皮苷回收率, 结果见表 1。

表1 乌药叶中槲皮苷的加样回收率试验结果 (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/%
0.5004	2.764	2.700	5.450	99.51		
0.5004	2.764	2.700	5.394	97.43		
0.5005	2.764	2.700	5.394	97.39	98.38	1.85
0.5004	2.764	2.700	5.396	97.49		
0.5006	2.765	2.700	5.381	96.88		
0.5003	2.763	2.700	5.506	101.59		

2.10 样品测定 取 5 个批号的乌药叶, 按“2.2”项下方法制备样品并测定 (平行操作 3 次)。计算样品中槲皮苷的含量, 结果见表 2。

表2 不同批次的乌药叶中槲皮苷的含量测定结果 (n=3)

批号	槲皮苷/%	RSD/%
070321	0.5523	1.18
071121	0.7895	1.38
071221	0.4251	1.51
080121	0.5621	1.01
080221	0.6475	1.59

3 讨论

在流动相的选择上, 我们比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-水-冰乙酸及乙腈-水-冰乙酸等系统, 最终选用了乙腈-0.5% 冰乙酸水溶液系统,

在此条件下，待测峰和杂质峰得到了良好的分离，且峰形较好，避免了拖尾。在进样量的选择上，比较了 20 μL、10 μL 和 5 μL，前二者进样量的理论塔板数 < 5000，分离度 < 1.5，5 μL 进样量的理论塔板数 > 5000，分离度 > 1.5，明显优于前二者，且出峰对称，峰形较好。

在提取方法的选择上，比较了超声提取、冷浸渗漉提取及加热回流提取等方法，加热回流提取收率明显高于前两种方法。在提取溶剂的选择上，比较了水、70% 乙醇、甲醇三种溶剂，70% 乙醇已能将待测成分提取完全，且相较于甲醇提取更有利于保护实验环境。

文中比较了 5 个批号的乌药叶药材，其中槲皮苷的含量在 0.42% ~ 0.79% 之间，表明乌药叶中槲皮苷的含量在不同样品中有一定差异，但随季节变化不

明显。

文中所建的方法测定准确、简单快速、精密度高、重复性好，可用于乌药叶药材及其产品的质量的控制。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京：化学工业出版社，2005：53.
 [2] 张茂江. 乌药叶的临床应用[J]. 四川中医，1994，12(5)：18.
 [3] 梁向明，周芹，大谷晴久. 乌药叶茶的抗氧化作用研究[J]. 卫生研究，2006，35(4)：636-638.
 [4] 张朝凤，孙启时，赵燕燕. 乌药叶中黄酮类成分研究[J]. 中国药物化学杂志，2001. 11(5)：274-276.
 [5] 张朝凤，孙启时，王峥涛. 乌药叶化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2001. 26(11)：765-767.
 [6] 刘云，俞桂新. 高效逆流色谱法分离制备乌药叶中的黄酮类成分[J]. 色谱，2007，25(5)：735-739.

(编辑：邹元平)

马钱子总生物碱脂质体的含量与包封率测定

陈 军^{1,2}，苏 璇¹，蔡宝昌²，王 玮¹，祁 艳²(1. 南京中医药大学药学院，南京 210029；2. 江苏省中药炮制重点实验室，南京 210029)

摘要：目的 建立测定马钱子总生物碱脂质体含量和包封率的方法，用于处方与工艺评价。方法 采用氨性氯仿法提取马钱子总生物碱并分析其成分，采用硫酸铵梯度法制备马钱子总生物碱脂质体。以土的宁为对照品，采用紫外分光光度法，在 254 nm 测定用破膜剂溶解的马钱子总生物碱脂质体的吸光度确定其含量。采用葡聚糖凝胶柱分离脂质体和游离药物，分别测定含量后计算包封率。结果 马钱子总生物碱提取物平均得率为 3.49%，在总生物碱提取物中土的宁和马钱子碱分别占 46.76% 和 26.51%。土的宁标准曲线的范围是 2.4 ~ 20 μg/mL，加样回收率在 96.66 ~ 102.62% 范围内。葡聚糖凝胶柱层析的回收率为 100.85 ± 0.79% (n = 3)。结论 所建立的方法简便快捷稳定，可以满足马钱子总生物碱脂质体质量控制的需要。

关键词：马钱子；总生物碱；土的宁；脂质体；含量测定；包封率

中图分类号：R284.1 文献标识码：A 文章编号：1003-9783(2009)03-0249-04

Determination of Content and Encapsulation Efficiency of Liposomes Containing Total Alkaloids from Seed of *Strychnos nux-vomica* L.

CHEN Jun^{1,2}，SU Xuan¹，CAI Baochang²，WANG Wei¹，QI Yan²(1. School of Pharmacy，Nanjing University of Traditional Chinese Medicine，Nanjing 210029，China；2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing，Nanjing University of Traditional Chinese Medicine，Nanjing 210029，China)

Abstract：Objective To establish the method to determine the content and encapsulation efficiency of liposomes containing total alkaloids from seed of *Strychnos nux-vomica* L. **Methods** The total alkaloids were extracted from seeds of

收稿日期：2008-08-19

作者简介：陈军(1975-)，男，讲师，药剂学博士，从事中药新剂型与药物动力学研究。Email：chenjun75@163.com。通讯作者：蔡宝昌，教授，博士生导师。Email：bccai@126.com。Tel：025-85811112。

基金项目：国家自然科学基金项目(30701111)。