

HPLC 法测定透骨草中槲皮素的含量

★ 王晖 刘良玉 (江西省药物研究所 南昌 330029)

★ 王林江 (江西医学院第一附属医院药剂科 南昌 330029)

关键词:透骨草;槲皮素;含量测定;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 460.6 文献标识码:A

透骨草为大戟科植物地构叶或凤仙科植物凤仙的干燥全草,常用于治疗风湿痹痛,筋骨挛缩,寒湿肢气,疮癤肿毒等。透骨草的发芽嫩枝含吲哚-3-乙腈(Indole-3-acetonitrile);苜蓿山萘酚-3-葡萄糖甙(Kaempferol-3-glucoside)、槲皮素-3-葡萄糖(Quercetin-3-glucoside)等化学成分^[1]。因透骨草的独特疗效而临床应用广泛。目前,文献有关透骨草质量控制的方法少有报道,本文采用高效液相色谱法测定透骨草中槲皮素的含量,该法简单,准确可靠,为透骨草及其制剂提供了一种质量控制方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪:大连依利特高效液相色谱系统,包括 UV 200 紫外可变波长检测器,PII 200 高压恒流泵,HW 2000 色谱工作站。

1.2 试剂 槲皮素对照品(0081-9905,供含量测定用)购自中国药品生物制品检定所;透骨草(市售);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:ALLtima C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温:30℃;流动相:甲醇-0.4%磷酸(40:60);流速:1.0 mL/分钟;检测波长:360 nm。

2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过二号筛)1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 50 mL,密塞,称定重量,加热回流 1.5 小时,放冷,再称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 mL,精密加入 25% 盐酸 7 mL,置 85℃ 水浴中水解 30 分钟,取出,迅速冷却,转移至 50 mL 量瓶中,并加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.3 对照品溶液制备 精密称取经五氧化二磷减压干燥 12 小时的槲皮素对照品,加 80% 甲醇制成 20 μg/mL 的溶液,即得。

2.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件,以外标法计算含量。

3 方法学考察

3.1 标准曲线的制备 分别精密吸取对照品溶液 2.5、5、7.5、10、12.5、17.5 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积分值为纵坐标,槲皮素进样量为横坐标绘制标准曲线,回归方程为: $y = 219\,116.6x - 137\,88$, $r = 0.999\,9$ 。槲皮素

在 0.052 5~0.367 5 μg 范围内进样量与峰面积积分值具有良好的线性关系。

3.2 精密度试验 取对照品溶液重复进样 6 次,槲皮素峰面积的 RSD 为 1.18%。

3.3 稳定性试验 将样品溶液在室温下放置,于 0、1、2、3、4、6、8、12、24 小时测定,结果样品溶液在 24 小时内基本稳定, RSD 为 1.29%。

3.4 重复性试验 取同一批药材细粉(过三号筛)分别称取 6 份,测定含量,测得槲皮素的平均含量为 0.282%, RSD 为 0.85% ($n = 6$)。

3.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的药材细粉(过三号筛)适量,共 6 份,分别加入槲皮素对照品,测定含量,结果见表 1。

表 1 槲皮素加样回收率试验结果

药材量/g	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.500 3	1.417	2.811 9	98.88		
0.500 6	1.422	2.814 1	99.32		
0.501 1	1.425	2.812 3	98.19	99.01	0.60
0.500 7	1.417	2.828 2	99.94		
0.501 0	1.415	2.814 4	99.05		
0.500 2	1.418	2.809 6	98.66		

3.6 样品含量测定 按样品含量测定法分别测定了 6 批药材,结果分别为 0.282%、0.280%、0.265%、0.136%、0.317%、0.108%。

4 讨论

(1)本实验用甲醇-0.4%磷酸(40:60)可将槲皮素与其他峰很好地分离,且流动相比简单。实验中考察了流动相的不同配比(50:60,55:45,45:55)对槲皮素峰的影响,结果表明流动相比比例除对保留时间有一定影响外,对槲皮素峰的分度无影响。

(2)我们比较了超声、热回流提取等提取方法,以及不同的水解,结果表明热回流提取,用 25% HCl、85℃ 水浴水解较好。

(3)透骨草因疗效独特而广泛用于临床,然而其质量评价方法报道极少,本试验为透骨草及其制剂的质量控制提供了分析方法。

参考文献

[1]江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科技出版社, 1977, 1878

(收稿日期:2005-04-07)