

## 水辣蓼中 2 种黄酮类成分含量测定

张宏武<sup>1</sup>, 任恒春<sup>1</sup>, 丁刚<sup>1</sup>, 李榕涛<sup>2</sup>, 魏建和<sup>1</sup>, 邹忠梅<sup>1</sup> (1. 中国医学科学院北京协和医院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 中国医学科学院北京协和医院药用植物研究所海南分所, 海南 万宁 571533)

**[摘要]** 目的 首次应用高效液相色谱方法建立同时测定水辣蓼药材中槲皮素和槲皮苷含量的测定方法。方法 Ver-tiSep GES C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm 5.0 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈-甲酸水(0.1% V/V) (19:81) 等度洗脱, 流速 1 ml/min, 检测波长为 350 nm 柱温: 30 °C。结果 槲皮素和槲皮苷分别在 4.827 ~ 80.455 μg/ml 和 2.934 ~ 48.900 μg/ml 范围内呈良好的线性关系 ( $r=0.9999$   $r=0.9997$ ,  $n=5$ ), 平均回收率分别为 97.98%、98.29% ,RSD 分别为 1.91%、1.84% ( $n=9$ )。结论 本方法准确、简便, 重复性好, 可用于水辣蓼中槲皮素和槲皮苷的含量测定。

**[关键词]** 水辣蓼; 槲皮素; 槲皮苷; 含量测定

**[中图分类号]** R917; R284

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2012)05-0378-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.05.017

## Determination of two flavones in *Polygonum hydropiper* Linn

ZHANG Hong-wu<sup>1</sup>, REN Heng-chun<sup>1</sup>, DING Gang<sup>1</sup>, LI Rong-tao<sup>2</sup>, WEI Jian-he<sup>1</sup>, ZOU Zhong-mei<sup>1</sup> (1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Wanning 571533, China)

**[Abstract]** **Objective** To established the HPLC method for simultaneously determination of quercetin and quercitrin in *Polygonum hydropiper* Linn. **Methods** A VertiSep GES C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm 5.0 μm) column was adopted with a mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid water (19:81) at the flow rate of 1 ml/min and the column temperature was set at 30 °C. The detection wavelength was 350 nm. **Results** The linear range of quercetin and quercitrin was 4.827 ~ 80.455 μg/ml ( $r=0.9999$ ,  $n=5$ ) and 2.934 ~ 48.900 μg/ml ( $r=0.9997$ ,  $n=5$ ), respectively, and the average recovery ( $n=9$ ) was 97.98% 98.29% ,RSD was 1.91% , 1.84% respectively. **Conclusions** The method was accurate, simple, reproducible, and could be used to determine the contents of quercetin and quercitrin in *Polygonum hydropiper* Linn.

**[Key words]** *Polygonum hydropiper* Linn; quercetin; quercitrin; HPLC dertermination

水辣蓼为蓼科植物水辣蓼 (*Polygonum hydropiper* Linn.) 的全草, 别名柳草、蓼子草、斑蕉草、蝙蝠草等。全草均可入药, 水辣蓼味辛, 温; 具有祛风利湿, 散瘀止痛, 解毒消肿等功效; 主要用于痢疾、肠胃炎、腹泻、脚气、疥癣、风湿关节痛、跌打肿痛、功能性子宫出血; 外用治毒蛇咬伤、皮肤湿疹等症状<sup>[1]</sup>。近年研究表明, 水辣蓼具有抗微生物、杀虫、抗氧化、抗肿瘤等多种生物活性<sup>[2~5]</sup>。水辣蓼中主要含有挥发油、黄酮及黄酮苷类化合物<sup>[5]</sup>。曾有文献报道用芦丁作为对照品控制水辣蓼的质量<sup>[6]</sup>, 在《中华本草》中是以槲皮素作为水辣蓼的薄层对照<sup>[7]</sup>。研究发现, 黄酮类成分为其抗氧化活性的有效成分<sup>[2]</sup>。为此, 本研究首次用

高效液相色谱法建立了同时测定水辣蓼中 2 种黄酮类成分槲皮素和槲皮苷的含量测定, 为该药材的质量标准研究奠定基础。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司): 600 泵; PDA 紫外检测器。试剂: 色谱乙腈(Burdick & Jackson); 重蒸水; 其余试剂均为分析纯。槲皮苷、槲皮素对照品均购于中国药品生物制品检定所, 槲皮素批号: 1-9905, 槲皮苷批号: 111538-200403。

样品: 10 批海南产水辣蓼样品分别采自海南文昌、屯昌, 由中国医学科学院药用植物研究所海南分所助理研究员李榕涛鉴定为蓼科植物水辣蓼 *Polygonum hydropiper* Linn. 的全草。

### 2 含量测定

**2.1 色谱条件** VertiSep GES C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm 5.0 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈-甲酸水(0.1% V/V)

**[基金项目]** 十一五国家科技支撑计划(2007BAI27B06)。

**[作者简介]** 张宏武(1977-), 女, 硕士, 助理研究员。Tel: (010) 57833281, E-mail: hwzhang@implad.ac.cn。

**[通讯作者]** 邹忠梅。Tel: (010) 57833290, E-mail: zzmou@implad.ac.cn。

V) (19 : 81) 等度洗脱。流速: 1 ml/min ; 检测波长: 350 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μl; 色谱分离见图 1。

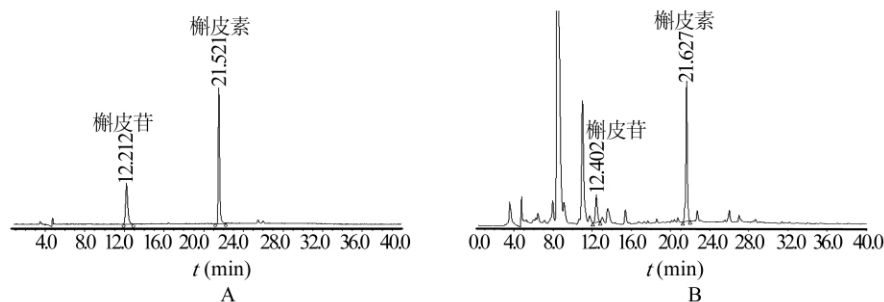


图 1 槲皮苷、槲皮素对照品 (A) 和水辣蓼药材 (B) HPLC 色谱图

## 2. 2 实验方法及方法学考察

**2.2.1 供试品溶液的制备** 取水辣蓼药材粉末 (过四号筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 ml 称定重量, 回流 1 h, 放至室温, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 精密称定, 蒸干, 用甲醇转移到 10 ml 容量瓶中, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液 1 ml 即得。

**2.2.2 对照品储备液的制备** 精密称取槲皮苷对照品 19.56 mg, 槲皮素对照品 32.18 mg, 甲醇定容于 10 ml 量瓶中, 作为对照品储备溶液。

**2.2.3 线性及定量限的测定** 精密称取适量槲皮苷对照品储备液配置成 2.934、9.780、24.450、29.340、48.900 μg/ml, 精密称取适量槲皮素对照品储备液配置成 4.827、16.091、40.228、48.273、80.455 μg/ml, 以浓度为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程分别为  $Y = 23\ 803X + 21\ 433$ ,  $r = 0.999\ 7$ ;  $Y = 30\ 366X + 64\ 581$ ,  $r = 0.999\ 9$ 。结果表明: 槲皮苷在 2.934 ~ 48.900 μg/ml, 槲皮素在 4.827 ~ 80.455 μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

**2.2.4 重复性试验** 精密称取同一批药材粉末 5 份 (编号 4), 按供试品溶液制备方法, 按照“2.1”项色谱条件下测定, 记录峰面积, 槲皮苷和槲皮素含量分别为 0.185 5%、0.304 1%; *RSD* 分别为 0.21%、0.17%。

**2.2.5 精密度试验** 取同一对照品溶液 (29.340 μg/ml), 重复进样 5 次, 测得峰面积, 槲皮苷和槲皮素对照品日间精密度 *RSD* 分别为 1.68%、1.87%, 日内精密度 *RSD* 分别为 1.2%、1.3%。

**2.2.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 在 0、4、8、24、48 h 分别按照“2.1”项色谱条件进样测定, 记录峰面积, 结果表明供试品在 48 h 内基本稳定, 槲皮苷和槲皮素对照品峰面积 *RSD* 分别为 1.2%、0.76%。

**2.2.7 回收率试验** 精取同一已知含量的水辣蓼

分别置 9 个三角瓶中, 每三份一组, 按样品中槲皮苷和槲皮素含量的 120%、100%、80% 分别加入适量槲皮苷和槲皮素对照品溶液, 然后按供试品溶液制备方法制备, 测定结果, 槲皮苷和槲皮素对照品平均加样回收率分别为 98.29%、97.98%; *RSD* 分别为 1.84%、1.91%。

**2.2.8 样品测定** 取 10 批水辣蓼药材粉末, 按供试品溶液制备方法制备样品, 按照“2.1”项色谱条件进行测定, 结果见表 1。

表 1 水辣蓼药材中槲皮苷、槲皮素含量测定结果 ( $n = 3$ )

编号	产地	槲皮素含量 (%)	槲皮苷含量 (%)	总含量 (%)
1	文昌溪头	0.371 5	0.147 3	0.518 8
2	文昌溪头	0.572 7	0.552 5	1.125 2
3	屯昌	0.728 0	0.255 7	0.983 7
4	屯昌	0.304 1	0.185 5	0.489 6
5	屯昌	0.065 2	0.084 3	0.149 5
6	屯昌	0.576 8	0.587 4	1.164 2
7	屯昌	0.321 3	0.293 1	0.614 4
8	屯昌	0.454 6	0.146 6	0.601 2
9	屯昌	0.387 0	0.083 6	0.470 6
10	屯昌	0.244 6	0.239 3	0.483 9

## 3 讨论

**3.1 对照品的选择** 芦丁在一半以上的高等植物中都存在, 不足以作为衡量水辣蓼药材质量的标准, 另外槲皮苷抗氧化活性比槲皮素强, 因此我们选择槲皮素、槲皮苷为对照品, 作为水辣蓼的质量评价指标, 从而可以更加全面的反映水辣蓼药材质量。

**3.2 提取方法的选择** 本实验曾分别用二氯甲烷、70% 乙醇和甲醇作为提取溶剂, 超声提取水辣蓼药材中槲皮素和槲皮苷的含量, HPLC 测定结果发现甲醇提取物中槲皮素和槲皮苷的含量最高。并对甲

(下转第 389 页)

因是检验方法有缺陷。如复方薄荷脑滴鼻液,有报道<sup>[4]</sup>其检测方法存在问题。该制剂鉴别项下“樟脑”采用UV法鉴别,以液体石蜡为参比溶液在289 nm波长处有最大吸收,但不同质量的液体石蜡对樟脑的最大吸收波长有不同的影响,测定时必须用与所配制剂使用的同厂家同批号的液体石蜡做参比,否则易导致检验结果出现差异。

#### 4 对策

**4.1 加强制剂质量管理,提高制剂质量** 针对抽验制剂中微生物限度、装量、含量测定等主要项目不合格率仍然偏高的问题,要加大专项检查力度,积极查找原因,追根溯源,必要时进行质量跟踪和安全性评价。同时,要严格制剂审批制度,对抽验不合格的制剂经过评价后,仍不合格者吊销制剂文号。加强药品生产监管制度建设;严格控制配制分装间的环境卫生,加强操作人员的卫生管理;为确保制剂质量,建议对微生物限度检查进行方法学验证,坚持制剂室年审制度,加大监督管理。

**4.2 提高制剂包装容器质量** 溶液剂多采用塑料瓶包装,封装不严,受温度、湿度影响大,应改善包装容器。只有包装容器密封不漏气,制剂的装量、含量、性状等出现问题的几率才会减少;包装容器的卫生质量提高了,微生物限度出现不合格的几率也会减少。因此建议:①使用符合要求的包装材料;②对瓶口进行二次密封;③对瓶口进行压膜封口处理或采用玻璃瓶密封包装;④用软管或铝箔封口。

**4.3 优化制剂处方和工艺,提高和统一制剂质量**

标准 对一些易出现质量问题的品种,若临床必需保留,应对其制剂处方和工艺进行优化,重新报批。建议向《中国药典》靠拢,药典上已记载的制剂品种,《中国人民解放军医疗机构制剂规范》不再收载。

**4.4 加强药检队伍建设** 为确保药品制剂质量,应改善药品检验实验室条件,配备符合要求的检验设备;同时要加强药检基层人员的专业技术培训,促进药检人员不断更新知识层次,提升药品检验能力,提高医疗机构制剂质量。

**4.5 切实执行医疗机构制剂配制质量管理规范** 监管部门应严格实施军队医疗机构制剂管理办法,加大制剂抽验的力度,扩大抽验覆盖面和抽验品种范围,增加抽验频次。抽验时加强制剂现场的监督检查,严格按照质量管理要求开展检验工作,保证药品制剂检验结果的准确可靠与公正;对抽验不合格制剂配制单位加大检查力度。通过有效地监督管理,进一步提高医疗机构制剂水平,保证人民群众和官兵用药安全有效。

#### 【参考文献】

- [1] 中国药典2010版.二部[S].2010:1070.
- [2] 中国人民解放军医疗机构制剂规范2002年版[S].2002:121.
- [3] 中国人民解放军医疗机构制剂规范2002年版增补本[S].2005:35.
- [4] 古卓良,傅小英.南京战区医疗机构制剂质量分析与对策[J].解放军药学报2008,24(2):187.

[收稿日期]2012-03-14

[修回日期]2012-07-17

(上接第379页)

醇超声提取和回流提取方式及提取次数进行了考察,最后确定提取方法为甲醇回流提取1 h作为供试品溶液的提取方法。

#### 【参考文献】

- [1] 全国中草药汇编编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1986:896.
- [2] Yagi A, Uemura T, Okamura N, et al. Antioxidative sulphated flavonoids in leaves of *Polygonum hydropiper* [J]. Phytochemistry, 1994, 35 (4): 885.
- [3] Haraguchi H, Hashimoto K, Yagi A. Antioxidative substances in

leaves of *Polygonum hydropiper* [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40 (8): 1349.

- [4] Haraguchi H, Ohmi I, Sakai S, et al. Effect of *Polygonum hydropiper* flavonoids on lens aldose reductase and related enzymes [J]. J Nat Prod, 1996, 59 (4): 443.
- [5] 巩忠福,杨国林,严作廷,等.蓼属植物的化学成分与药理学活性研究进展[J].中草药2002,33(1):82.
- [6] 罗杰,陆霞.HPLC法测定水辣蓼中芦丁的含量[J].中草药2004,35(3):285.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草第6卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999:662.

[收稿日期]2011-11-30

[修回日期]2012-05-17