

· 药物分析 ·

HPLC 测定鼠曲草中槲皮素的含量

韦少宣¹, 夏爱军², 廖厚知³ (1. 广西中医药大学药学院中药教研室, 广西南宁 530021; 2. 解放军第303医院药剂科, 广西南宁 530021; 3. 广西汇科药物研究所, 广西南宁 530007)

[摘要] 目的 建立鼠曲草中槲皮素的含量测定方法。方法 采用 VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱。以甲醇-0.2% 磷酸溶液 (45 : 55) 为流动相; 流速为 1.0 ml/min; 检测波长为 375 nm。结果 鼠曲草中的槲皮素含量测定方法在 10.22 ~ 51.10 μg/ml 浓度范围内与峰面积的线性关系良好 ($r = 0.9997$); 平均回收率为 100.18%, RSD 为 1.38%。结论 所建立的方法准确、灵敏、重现性好, 可用于鼠曲草的质量控制。

[关键词] 鼠曲草; 槲皮素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)06-0451-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.016

Determination of quercetin in *Gnaphalium affine*

WEI Shao-xuan¹, XIA Ai-jun², LIAO Hou-zhi³ (1. Department of Traditional Chinese Medicine, School of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530021, China; 2. Department of Pharmacy, the 303rd Hospital of PLA, Nanning 530021, China; 3. Guangxi Huike Institute of Materia Medica, Nanning 530007, China)

[Abstract] **Objective** To establish the determination method of Quercetin content in *Gnaphalium affine* D. Don. **Methods** VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 150 mm 5 μm) column was used, the mobile phase was methanol-0.2% phosphoric acid solution (45 : 55) with the flow rate as 1.0 ml/min. The detection wavelength was 375 nm. **Results** The linear relation of hyperin was good in the range from 10.22 μg/ml to 51.10 μg/ml. The average recovery was 100.18%, RSD was 1.38%. **Conclusion** The method established was accurate, sensitive and good in reproducibility which could be applied to the quality control of *G. affine* D. Don.

[Key words] *Gnaphalium affine*; quercetin; HPLC

鼠曲草 (*Gnaphalium affine* D. Don.) 为菊科植物, 又名清明菜、田艾、佛耳草、土茵陈、酒曲绒等, 以全株入药, 具有止咳平喘、降血压、祛风湿之功。主治感冒咳嗽、支气管炎、哮喘、高血压、蚕豆病、风湿腿痛; 外用治疗跌打损伤、毒蛇咬伤^[1]。化学成分主要为生物碱、挥发油、甾醇类和黄酮类等化合物^[2]。槲皮素为鼠曲草的有效成分之一, 本研究建立了槲皮素的含量测定方法, 旨在为鼠曲草的质量标准制定提供实验依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器 LC-2010A 高效液相色谱仪 (日本岛津制作所); SPD-M10Avp 紫外检测器 (日本岛津制作所); 十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱 (VP-ODS 柱, 150 mm × 4.6 mm), 保护柱: YWG C₁₈ (10 mm × 4.6 mm); AB265-S 分析天平 (梅特勒-托利多); UV-2450 分光光度计 (日本岛津制作所)。

1.2 材料 槲皮素对照品 (中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯, 盐酸、磷酸均为分析纯。鼠曲草药材 (由广西汇科药物研究所工程师廖厚知工程师采集并鉴定为鼠曲草) 采集地点分别为广西南宁 (G1)、防城 (G2)、百色 (G3)、柳州 (G4)、河池 (G5)、玉林 (G6)、梧州 (G7)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱为岛津 VP-ODS 柱 (150 mm × 4.6 mm); 流动相为甲醇-0.2% 磷酸溶液 (45 : 55); 流速为 1.0 ml/min, 柱温为室温; 检测波长为 375 nm, 理论板数按槲皮素计不低于 4 000, 此条件下槲皮素与其他成分分离度不低于 1.5。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品适量, 加甲醇适量制成每 1 ml 含 30 μg 的溶液, 即得。

2.2.2 样品溶液的制备 取本品粉末 (过三号筛) 1 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加石油醚 (60 ~ 90

[作者简介] 韦少宣 (1977-) 男, 讲师. Tel: (0771) 13878100058, E-mail: freeherb305@163.com.

℃) 80 ml 加热回流提取至无色, 弃去石油醚液, 残渣挥去石油醚, 置 100 ml 圆底烧瓶中, 加甲醇-2.5 mol/L 盐酸溶液(4:1) 40 ml, 水浴加热回流 60 min 放冷, 滤过, 滤液移至 50 ml 量瓶中, 残渣用少量甲醇洗涤, 洗液并入量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 系统性试验 分别精密吸取对照品溶液、样品溶液各 20 μl, 注入高效液相色谱仪, 按确定的色谱条件测定, 在此条件下样品中槲皮素的理论塔板数为 4 518, 分离度为 4.8, 与其他成分分离良好, 见图 1。

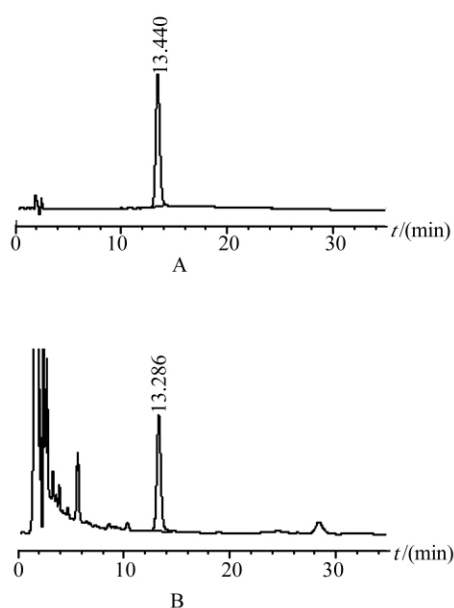


图 1 槲皮素对照品(A)、供试品溶液(B) 高效液相色谱图

2.4 线性关系的考察 精密称取槲皮素对照品 10.22 mg, 置 100 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 1、2、3、4、5 ml, 分别置 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。按上述色谱条件, 分别进样 20 μl, 测定, 以峰面积积分 Y 对槲皮素进样量 X(μg) 进行回归分析, 得回归方程: $Y = 2\ 020\ 660X - 35\ 365$, $r = 0.999\ 7$ 。表明槲皮素在 10.22 ~ 51.10 μg/ml 浓度范围内线性关系良好。

2.5 仪器精密度实验 取槲皮素对照品溶液(30.66 μg/ml), 按上述色谱条件, 依法操作测定, 重复进样 5 次, 测定色谱峰面积, 计算 RSD 值为 0.12%, 表明仪器精密度良好。

2.6 样品溶液稳定性实验考察 精密吸取同一批样品(G1) 溶液 20 μl, 按样品溶液制备方法制备样品溶液, 在 2、4、6、8、24、48、72 h 时间间隔进行分析, 测定色谱峰面积, 计算 RSD 值为 0.95%, 表明样

品溶液制备后 72 h 内稳定。

2.7 重复性实验 取同一批号样品 6 份(G1), 按样品溶液制备方法制备样品溶液, 测定含量进行分析, 结果平均含量为 1.123 mg/g, RSD 为 1.05%, 表明本测定方法重复性好。

2.8 加样回收率实验考察 取已知准确含量(1.123 mg/g) 的样品 6 份(G1), 每份取 0.5 g, 精密称定, 置 100 ml 圆底烧瓶中, 精密加入 1 ml 槲皮素对照品溶液(0.552 mg/ml), 挥去甲醇, 按样品溶液制备方法制备, 分别注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件下测定槲皮素峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。表明本方法回收率良好。

表 1 回收率实验考察结果

取样量 (g)	样品量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.506 9	0.569 2	0.552 0	1.124 2	100.54		
0.508 3	0.570 8	0.552 0	1.132 6	101.78		
0.507 2	0.569 6	0.552 0	1.113 9	98.61	100.18	1.38
0.502 4	0.564 2	0.552 0	1.113 6	99.53		
0.501 6	0.563 3	0.552 0	1.118 0	100.49		
0.500 5	0.562 1	0.552 0	1.112 3	101.68		

2.9 样品的含量测定 取鼠曲草 7 批, 按上述方法测定, 表明不同产地的鼠曲草中槲皮素的含量在 0.088% ~ 0.123% 之间, 平均含量为 0.109%, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定实验考察结果

序号	取样量 (g)	含量 (mg/g)	含量 (%)	平均值 含量 (%)
G1	1.035	1.121	0.112	
G2	1.014	1.155	0.116	
G3	1.062	1.056	0.106	
G4	1.012	1.228	0.123	0.109
G5	1.019	0.989	0.099	
G6	1.051	1.222	0.122	
G7	1.023	0.881	0.088	

3 讨论

鼠曲草作为广西民间草医常用药材, 在民间具有广泛的应用, 壮族的特色食品糍粑中就含有鼠曲草。但其相关文献报道较少, 目前还没有相关的质量控制的报道。为此, 本研究以鼠曲草中槲皮素的含量作为测定指标, 建立方法, 旨在为鼠曲草药材的质量控制提供含量测定依据。本研究中, 在鼠曲草药材的提取上探讨过 70% 甲醇超声提取^[3], 70% 乙醇回流提取^[4], 结果杂质峰都太多, 难以分离。采

用石油醚提取后,药渣分别用甲醇-盐酸回流提取30、60、90 min,结果槲皮素峰均能与杂质峰较好分离;提取30 min未能提取完全;提取60 min与90 min基本无差异。为节省试验时间,故选择60 min。在流动相的选择上探讨过甲醇-水(35:65)^[3],结果槲皮素出峰时间较长;甲醇-0.4%磷酸水溶液(50:50)^[4],结果分离度未达到要求;流动相换成甲醇-0.2%磷酸水溶液(45:55)后,色谱图各种参数达到要求。

【参考文献】

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编:上册[M]. 北

京:人民卫生出版社,1996:894.

- [2] 国家中医药管理局,《中华本草》编委会. 中华本草:第7册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:848.
- [3] 李少锋,崔桂友. 高效液相色谱法测定丁香中槲皮素的含量[J]. 扬州大学烹饪学报,2011,28(1):51.
- [4] 王丽,吕圭源,王利. HPLC测定乌药叶中槲皮素的含量[J]. 北京联合大学学报:自然科学,2011,25(2):50.

[收稿日期] 2012-02-14

[修回日期] 2012-04-24

(上接第407页)

- [10] McDonnell NJ, Pavy TJ, Green LK. Sugammadex in the management of rocuronium-induced anaphylaxis [J]. Br J Anaesth, 2011, 106(2): 199.
- [11] Plaud B, Meretoja O, Hofmockel R, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade with sugammadex in pediatric and adult surgical patients [J]. Anesthesiology, 2009, 110(2): 284.
- [12] Suzuki T, Kitajima O, Ueda K, et al. Reversibility of rocuronium-induced profound neuromuscular block with sugammadex in younger and older patients [J]. Br J Anaesth, 2011, 106(6): 823.
- [13] Monk T. Obesity has no clinically relevant impact upon recovery time following administration of sugammadex [C]. Presented at Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists. Orlando: 2008. Abstract A682.
- [14] Desforges JC, McDonnell NJ. Sugammadex in the management of a failed intubation in a morbidly obese patient [J]. Anaesth Intensive Care, 2011, 39(4): 763.
- [15] Van Lancker P, Dillemans B, Bogaert T, et al. Ideal versus corrected body weight for dosage of sugammadex in morbidly obese patients [J]. Anaesthesia, 2011, 66(8): 721.
- [16] Sharp LM, Levy DM. Rapid sequence induction in obstetrics revisited [J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2009, 22(3): 357.
- [17] Puhlinger FK, Kristen P, Rex C. Sugammadex reversal of rocuronium-induced neuromuscular block in Caesarean section patients: a series of seven cases [J]. Br J Anaesth, 2010, 105(5): 657.
- [18] Williamson RM, Mallaiah S, Barclay P. Rocuronium and sugammadex for rapid sequence induction of obstetric general anaesthesia [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2011, 55: 694.
- [19] Robertson EN, Driessen JJ, Booij LH. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rocuronium in patients with and without renal failure [J]. Eur J Anaesthesiol, 2005, 22(1): 4.
- [20] Yentis SM. Suxamethonium and hyperkalaemia [J]. Anaesth Intensive Care, 1990, 18(1): 92.
- [21] Staals LM, Snoeck MM, Driessen JJ, et al. Multicentre, parallel-group, comparative trial evaluating the efficacy and safety of

sugammadex in patients with end-stage renal failure or normal renal function [J]. Br J Anaesth, 2008, 101(4): 492.

- [22] Porter MV, Paleologos MS. The use of rocuronium in a patient with cystic fibrosis and end-stage lung disease made safe by sugammadex reversal [J]. Anaesth Intensive Care, 2011, 39(2): 299.
- [23] Unterbuchner C, Fink H, Blobner M. The use of sugammadex in a patient with myasthenia gravis [J]. Anaesthesia, 2010, 65(3): 302.
- [24] Matsuki Y, Hirose M, Tabata M, et al. The use of sugammadex in a patient with myotonic dystrophy [J]. Eur J Anaesthesiol, 2010, 28(2): 145.
- [25] de Boer HD, van Esmond J, Booij LH, et al. Reversal of rocuronium induced profound neuromuscular block by sugammadex in Duchenne muscular dystrophy [J]. Paediatr Anaesth, 2009, 19(12): 1226.
- [26] Cammu G, De Kam PJ, Demeyer I, et al. Safety and tolerability of single intravenous doses of sugammadex administered simultaneously with rocuronium or vecuronium in healthy volunteers [J]. Br J Anaesth, 2008, 100(3): 373.
- [27] de Kam PJ, van Kuijk J, Prohn M, et al. Effects of sugammadex doses up to 32 mg/kg alone or in combination with rocuronium or vecuronium QTc prolongation: a thorough QTc study [J]. Clin Drug Investig, 2010, 30(9): 599.
- [28] Peeters PA, Michiel W, Heuvel VD, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of sugammadex using single high doses (up to 96 mg/kg) in healthy adult subjects: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled, single-centre study [J]. Clin Drug Investig, 2010, 30(12): 867.
- [29] Menendez-Ozcoidi L, Ortiz-Gómez JR, Olaguibel-Ribero JM, et al. Allergy to low dose sugammadex [J]. Anaesthesia, 2011, 66(3): 217.
- [30] Paton F, Paulden M, Chambers D, et al. Sugammadex compared with neostigmine/glycopyrrolate for routine reversal of neuromuscular block: a systematic review and economic evaluation [J]. Br J Anaesth, 2010, 105(5): 558.

[收稿日期] 2012-03-14

[修回日期] 2012-05-02