

HPLC 测定毛果杜鹃中槲皮苷的含量

卢端萍*

(福建省药品检验所 福州 350001)

[摘要] 目的: 测定毛果杜鹃中槲皮苷的含量。方法: 采用 HPLC, 用 Hypersil C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-0.05% 磷酸(20:80) 为流动相, 检测波长 350nm。结果: 槲皮苷在 1.966~98.3μg·mL⁻¹ 线性关系良好, 槲皮苷平均回收率为 100.30%, RSD 为 2.54% (n=6)。结论: 该方法简便快速, 准确实用, 可用于控制毛果杜鹃的质量。

[关键词] HPLC; 毛果杜鹃; 槲皮苷

毛果杜鹃又称满山白, 为杜鹃花科植物毛果杜鹃 *Rhododendron seniavinii* Maxim. 的干燥嫩枝与叶^[1], 具有镇咳祛痰之功效, 广泛分布于福建北部。毛果杜鹃中主要含有槲皮苷、金丝桃苷、槲皮素等黄酮类化合物^[2], 其中毛果杜鹃中槲皮素的含量测定已有报道^[3], 但槲皮苷含量测定未见报道。本文建立高效液相色谱法测定毛果杜鹃中槲皮苷的含量, 该方法简便, 易行, 可用于评价该药材的质量。

1 仪器与试剂

岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪, 真空脱气机, 四元梯度泵, 自动进样器, 二极管阵列检测器 (DAD 检测器), 超纯水器 (Milipore); 槲皮苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 11538-200302), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯, 毛果杜鹃药材经福建省药品检验所金鸣副主任药师鉴定, 为杜鹃花科植物毛果杜鹃 *Rhododendron seniavinii* Maxim. 的干燥嫩枝与叶, 由福建新大陆药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取常温减压干燥 12h 的槲皮苷对照品 10mg, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1mL, 置 100mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取本品粉末 (过四号筛) 约 1g, 置 100mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 25mL, 称重, 加热回流 1h, 补足减失重量, 滤过, 即得。

2.2 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 乙腈-0.05%

磷酸(20:80) 为流动相, 检测波长为 350nm。柱温: 室温; 流速: 1mL·min⁻¹; 进样量 20μL。

2.3 系统适应性试验

分别取对照品溶液、样品溶液, 按上述条件实验, 对样品峰和对照品峰的系统适应性参数进行测试比较, 结果见表 1。

表 1 系统适用性

参数	对照品	样品
理论板数	8 640	7 963
分离度	-	1.79
对称因子	1.21	1.31
峰宽	0.99	1.04

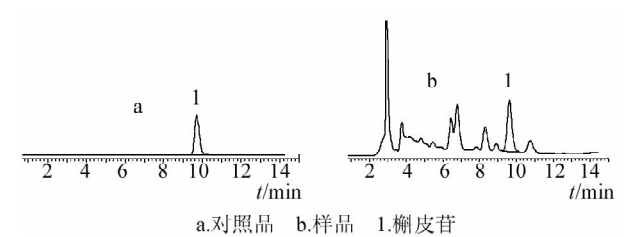


图 1 毛果杜鹃 HPLC 图

2.4 方法学考察

2.4.1 准确度试验 取已知含量的同一产地 (顺昌) 毛果杜鹃样品, 采用加样回收试验, 精密加一定量槲皮苷对照品, 按供试品溶液的制备方法和色谱条件测定, 并计算回收率, 结果见表 2。

表 2 样品中槲皮苷回收率试验结果

样品含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.122 1	0.231 2	96.32	100.30	2.54
0.122 3	0.238 8	102.83		
0.121 5	0.237 0	101.95		
0.122 2	0.236 5	100.89		
0.122 0	0.234 8	99.49		
0.122 8	0.238 1	101.72		

注: 对照品加入量均为 0.113 3mg。

[通讯作者] * 卢端萍, E-mail: ldp18@tom.com

2.4.2 精密度试验

2.4.2.1 重复性试验 取同一产地(顺昌)毛果杜鹃样品 6 份,分别制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,测得槲皮苷平均含量为 $0.243\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 0.67%,表明该法具有良好的重复性。

2.4.3 线性关系考察 精密称取槲皮苷对照品适量,加甲醇分别制成浓度为 1.966, 9.83, 19.66, 39.32, 78.64, $98.3\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,分别吸取 20 μL ,注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件进行测定。以峰面积(mAU)为纵坐标,相应的对照品浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=38\ 201X-6\ 042.7$, 相关系数 $r=1.000\ 0$,表明槲皮苷在 $1.966\sim98.3\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.5 耐用性

2.5.1 稳定性试验 取毛果杜鹃样品(产地:顺昌)分别于 0, 1, 4, 8, 12h 进样,按上述色谱条件测定槲皮苷含量,测得槲皮苷的 RSD 为 0.29%,表明供试品溶液在 12h 内稳定。

2.5.2 不同色谱柱考察 本实验考察了不同色谱柱对样品(产地:顺昌)中槲皮苷的含量测定结果并进行了比较。结果显示,使用 2 种型号色谱柱槲皮苷含量 RSD <2%,表明该法耐用性良好,测定结果见表 3。

表 3 色谱柱耐用性			
产地	色谱柱	槲皮苷含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
顺昌	Hypersil C ₁₈ 柱(4.6mm × 250mm)	0.246 1	1.04
	Phenomenex Luna C ₁₈ (4.6mm × 250mm)	0.242 5	

2.6 样品测定

分别对 3 批毛果杜鹃样品按上述含量测定方法进行测定,结果见表 4。

表 4 毛果杜鹃 3 批样品含量

产地	槲皮苷含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
建瓯	0.154 9
南平	0.357 7
顺昌	0.243 1

3 讨论

3.1 流动相的选择 本试验曾采用甲醇-0.01mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-冰醋酸(40:60:1.5)^[4]为流动相,分离效果较差;考察不同比例的乙腈-0.05%磷酸为(20:80)流动相,槲皮苷分离效果较好。

3.2 提取溶剂的选择 本文曾对乙醇,80%甲醇、70%甲醇、60%甲醇、50%甲醇提取溶剂进行了考察,结果表明不同提取溶剂提出槲皮苷含量无显著差异。当提取溶剂浓度较高时,槲皮苷峰形较差,当乙醇浓度降低为 70%时,槲皮苷峰形较好,故本文提取溶剂选择 70%乙醇。

3.3 提取时间的选择 本文曾对提取时间进行考察,结果提取 1h,样品中槲皮苷已提取完全。

3.4 有文献^[3]报道,毛果杜鹃中含有槲皮素,本试验对样品中槲皮素的含量进行测定,结果槲皮素含量甚微,表明可能与药材采收季节有关,有待进一步研究。**TCM**

参考文献

[1] 福建省食品药品监督管理局.福建省中药材标准[S].福建:海风出版社,2006,259-259.
[2] 南京中医药大学.中药大辞典(下册)[M].上海:上海科学技术出版社,2006,3530.
[3] 潘馨.RP-HPLC 测定几种闽产杜鹃中槲皮素的含量[J].药物分析杂志,2002,22(6):436-438.
[4] 国家药典委员会.中国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2005:149-150.

(收稿日期 2008-02-28)

Determination of Quercitrin in *Rhododendron seniavinii* Maxim. by HPLC

Lu Duanping

(Fujian Insitute of Drug control , Fuzhou Fujian 350001 , China)

[Abstract] Objective: To establish the method of determining quercitrin in *Rhododendron seniavinii* Maxim. by HPLC. Methods: HPLC was adopted and its conditions were as follows: Hypersil C₁₈column, the mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid(20:80), detection wavelength was at 350nm. Results: The linear range of quercitrin was 1.966~98.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The average recovery of quercitrin was 100.30%, RSD was2.54% ($n=6$) . Conclusion: This method is simple, accurate. It can be used to control the quality of *Rhododendron seniavinii* Maxim. .

[Key Words] HPLC; *Rhododendron seniavinii* Maxim. ; Quercitrin