

HPLC同时测定飞扬草中没食子酸和槲皮苷的含量

蓝晓玉, 钟保恒(广西柳州食品药品检验所, 广西 柳州 545001)

摘要: 目的 建立飞扬草中没食子酸和槲皮苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, ZORBAX SB-Aq(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱, 柱温 30 °C; 流动相为甲醇-乙腈-0.2%磷酸溶液, 采用梯度方式洗脱; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长随时间变换。结果 没食子酸和槲皮苷在 2.328~58.20 μg·mL⁻¹和 6.804~170.1 μg·mL⁻¹内呈良好的线性关系, *r* 分别为 0.999 5 和 0.999 8; 平均回收率为 100.26%和 96.29%, RSD 分别为 0.64%和 0.69%(*n*=9)。结论 该方法快速, 简便, 准确, 为飞扬草药材及其制剂的质量控制提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 飞扬草; 槲皮苷; 没食子酸; 含量测定

中图分类号: R284.1;R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)07-0671-03

Determination of Gallic Acid and Quercitrin in *Euphorbia hirta* L. by HPLC

LAN Xiaoyu, ZHONG Baoheng(Guangxi Liuzhou Institute for Drug Control, Liuzhou 545001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of gallic acid and quercitrin in *Euphorbia hirta* L. **METHODS** Using ZORBAX SB-Aq(4.6 mm×250 mm, 5 μm)column, at 30 °C; methanol-acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution was used as the mobile phase, with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was changed by time. **RESULTS** The gallic acid and quercitrin had a good linearity relationship between 2.328~58.20 μg·mL⁻¹ and 6.804~170.1 μg·mL⁻¹, with *r*=0.999 5 and 0.999 8. The average recovery rate were 100.26% and 96.29%, with RSD of 0.64% and 0.69%(*n*=9). **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, suitable for the quality control of *Euphorbia hirta* L.

KEY WORDS: HPLC; *Euphorbia hirta* L.; quercitrin; gallic acid; content determination

飞扬草收载于中国药典 2010 年版一部, 为大戟科植物飞扬草 *Euphorbia hirta* L. 的干燥全草, 性辛、酸、凉; 有小毒。归肺、膀胱、大肠经, 具有清热解毒, 利湿止痒, 通乳等功效, 临床上用于肺痈, 乳痈, 疔疮肿毒, 牙疳, 痢疾, 泄泻, 热淋, 血尿, 湿疹, 脚癣, 皮肤瘙痒, 产后少乳等。主要成分为没食子酸和槲皮苷^[1]。中国药典 2010 年版一部未收载其含量测定方法, 同时测定飞扬草中没食子酸及槲皮苷含量的方法亦未见文献报道。本试验建立了高效液相色谱法同时测定没食子酸及槲皮苷含量的方法, 结果表明该方法灵敏度高, 专属性强, 操作简便, 可作为飞扬草药材及其制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

岛津 LC2010A 高效液相色谱仪, 紫外可见波长检测器, LCsolution 色谱工作站; 岛津 UV-2550 紫外可见分光光度计; 梅特勒 XS205 电子分析天平; 超声波清洗器(AS7240BT, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 没食子酸对照品(中国药品生物制品

检定所, 批号: 110831-200803, 供含量测定用, 按含 C₇H₆O₅ 计为 90.1%), 槲皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111538-200302, 供含量测定用); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher); 甲醇(色谱纯, 美国 Fisher); 水为一级实验用水; 飞扬草药材采自广西柳江、武宣、象州、融水等地, 原植物经本所中药室李玲副主任中药师鉴定为大戟科植物飞扬草 *Euphorbia hirta* L. 的全草, 药材除去杂质, 切断, 晒干后置 60 °C 烘箱中干燥 24 h, 粉碎, 过二号筛备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-Aq(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 °C; 流动相为甲醇-乙腈-0.2%磷酸溶液 0~7 min(10 : 5 : 85), 7.01~15 min(38 : 10 : 52); 检测波长 0~7 min(273 nm), 7.01~15 min(256 nm); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 10 μL。在该条件下, 供试品中的槲皮苷与其他杂质峰均达到较好的分离, 供试品及对照品色谱图见图 1。

作者简介: 蓝晓玉, 女, 主管药师 Tel: (0772)2825417 E-mail: 254290439@qq.com

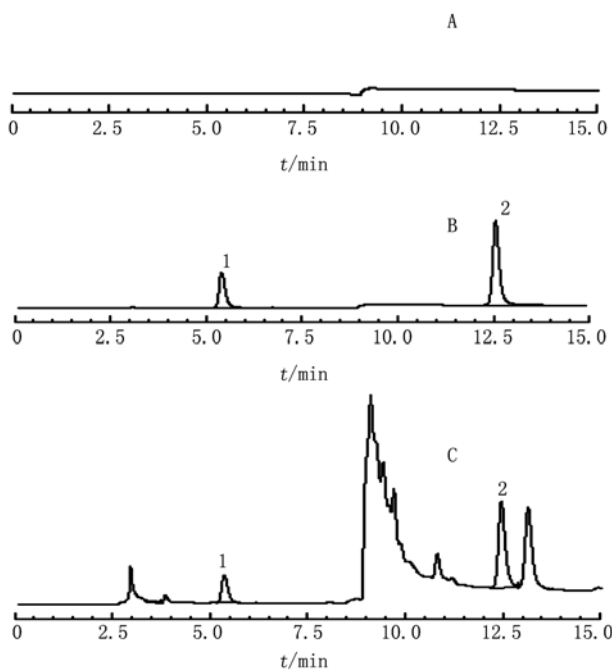


图1 高效液相色谱图
A-空白溶剂; B-对照品; C-供试品; 1-没食子酸; 2-槲皮苷
Fig 1 HPLC chromatograms
A-blank solvent; B-control; C-sample; 1-gallic acid; 2-quercitrin

2.2 线性关系考察

2.2.1 对照品贮备液的制备

2.2.1.1 没食子酸对照品贮备液 精密称取没食子酸对照品(使用前无需处理)12.92 mg(按含 $C_7H_6O_5$ 为 90.1%计)置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.1.2 槲皮苷对照品贮备液 精密称取槲皮苷对照品(使用前置五氧化二磷减压干燥器中干燥 24 h) 22.68 mg 置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密量取没食子酸对照品贮备液 0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 和槲皮苷对照品贮备液 0.6, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0 mL 置同一 20 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成不同浓度的对照品溶液。

2.2.3 线性试验 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 10 μ L 进样测定,以对照品峰面积为纵坐标,以对照品溶液的浓度为横坐标,进行线性回归,得没食子酸和槲皮苷回归方程分别为:
 $Y=29\ 243\ 358X+20\ 523$, $r=0.999\ 5$; $Y=26\ 280\ 039X+51\ 494$, $r=0.999\ 8$ 。结果表明没食子酸和槲皮苷在 2.328~58.20 μ g·mL⁻¹ 和 6.804~170.1 μ g·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系。

2.3 仪器精密度试验

分别精密吸取上述对照品溶液 10 μ L,注入色谱仪,连续进样 6 次,结果没食子酸和槲皮苷的 RSD 分别为 0.30%和 0.32%,表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验

取本品粉末 1 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入甲醇约 20 mL,超声处理 40 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取此供试液进行测定,于 0, 4, 8, 12, 24 h 分别精密吸取 10 μ L 进行测定,记录没食子酸和槲皮苷的峰面积,结果 RSD 分别为 0.57%和 0.92%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5 重复性试验

分别取本品粉末 6 份,精密称定,置 25 mL 量瓶中,按“2.4”项下方法制得供试液,取此溶液进行测定,记录没食子酸和槲皮苷的峰面积,结果没食子酸和槲皮苷的含量分别为 0.47 mg·g⁻¹ (RSD=0.92%)和 1.66 mg·g⁻¹ (RSD=1.03%),表明本品含量测定方法的重复性良好。

2.6 回收率试验

精密称取 9 份已知含量的样品约 0.5 g,分别精密加入没食子酸对照品贮备液 0.8, 1.0, 1.2 mL 和槲皮苷对照品贮备液 3.0, 3.7, 4.4 mL,置 25 mL 量瓶中,按“2.4”项下方法制得 3 个浓度的供试液,取此溶液进行测定,计算回收率,结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

| 组分 | 已知量/ mg | 加入量/ mg | 测得量/ mg | 回收率/% | 平均值/% | RSD/% |
|---------|------------|------------|------------|--------|--------|-------|
| 没食子酸 | 0.235 5 | 0.186 2 | 0.420 9 | 99.57 | 100.26 | 0.64 |
| | 0.236 2 | 0.186 2 | 0.422 3 | 99.95 | | |
| | 0.235 7 | 0.186 2 | 0.421 7 | 99.89 | | |
| | 0.235 9 | 0.232 8 | 0.469 5 | 100.34 | | |
| | 0.235 8 | 0.232 8 | 0.468 3 | 99.87 | | |
| | 0.237 2 | 0.232 8 | 0.469 1 | 99.61 | | |
| | 0.236 8 | 0.279 4 | 0.518 1 | 100.68 | | |
| | 0.236 6 | 0.279 4 | 0.519 0 | 101.07 | | |
| | 0.237 0 | 0.279 4 | 0.520 2 | 101.36 | | |
| | 0.831 8 | 0.680 4 | 1.481 3 | 95.46 | | |
| 0.834 2 | 0.680 4 | 1.482 6 | 95.30 | | | |
| 0.832 3 | 0.680 4 | 1.488 9 | 96.50 | | | |
| 0.833 3 | 0.839 2 | 1.635 7 | 95.61 | | | |
| 0.833 0 | 0.839 2 | 1.640 6 | 96.23 | | | |
| 0.837 6 | 0.839 2 | 1.646 8 | 96.43 | | | |
| 0.836 5 | 0.997 9 | 1.804 2 | 96.97 | | | |
| 0.835 5 | 0.997 9 | 1.803 6 | 97.01 | | | |
| 0.837 0 | 0.997 9 | 1.806 1 | 97.11 | | | |

2.7 样品测定

取 4 个产地共 4 批飞扬草药材, 按“2.5”项下方法制得供试液并测定, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果($n=5$)

Tab 2 Determination results of sample($n=5$)

| 产地 | 含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | | | |
|------|-----------------------------------|-------|------|-------|
| | 没食子酸 | RSD/% | 槲皮苷 | RSD/% |
| 广西柳江 | 0.32 | 1.21 | 1.25 | 0.89 |
| 广西武宣 | 0.45 | 0.59 | 1.50 | 0.92 |
| 广西象州 | 0.37 | 1.05 | 1.26 | 1.10 |
| 广西融水 | 0.48 | 0.74 | 1.66 | 0.83 |

3 讨论

分别取没食子酸对照品储备液和槲皮苷对照品储备在 200~400 nm 波长内扫描, 没食子酸在 273 nm, 214 nm、槲皮苷在 256 nm, 350 nm 的波长处有吸收峰, 排除边缘效应的干扰, 没食子酸选择

273 nm、槲皮苷选择 256 nm 作为检测波长。根据样品中各成分出峰的时间将波长转换设定为: 0~7 min(273 nm), 7.01~15 min(256 nm), 达到同时测定的目的。

笔者曾对方法中溶剂的选择、用量和超声提取时间进行过考察^[2], 甲醇作为提取溶剂、20~30 倍溶剂用量、连续超声 40 min 为最佳提取条件。

实验结果表明, 建立的含量测定方法简便, 专属性高, 测定结果准确, 为飞扬草药材及其制剂的质量控制提供了参考。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 46.
- [2] ZHONG B H. Determination of quercitrin in *Euphorbia hirta* L by HPLC [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2009, 11(8): 32-34.

收稿日期: 2010-09-10