

HPLC 法测定荨麻中槲皮苷的含量

曹艳萍¹, 杨秀丽²

(1. 榆林学院化学化工学院, 陕西 榆林 719000; 2. 济南大学化学化工学院, 山东 济南 250022)

摘 要: 目的: 建立食药两用植物荨麻中槲皮苷含量的测定方法。方法: 色谱柱: C₁₈ 柱(150mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(体积比 50:50); 流速: 1.0ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 360nm。结果: 槲皮苷进样量在 0.40~2.00μg 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9996$), 回收率 96.88%, RSD 1.68%。结论: 本法简便, 结果可靠, 可用于荨麻质量控制。

关键词: HPLC; 荨麻; 槲皮苷; 含量测定

Determination of Quercitrin in Urtica by HPLC

CAO Yan-ping¹, YANG Xiu-li²

(1. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Yulin College, Yulin 719000, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Jinan University, Jinan 250022, China)

Abstract: To establish a HPLC method for the determination of quercitrin in Urtica. Methods: The analysis was performed on C₁₈ column (150mm × 4.6mm, 5μm), the mobile phase was MeOH-0.2% H₃PO₄ (50:50) with a flow rate at 1.0ml/min and

收稿日期: 2006-08-12

作者简介: 曹艳萍(1958-), 女, 教授, 主要从事天然产物分析和有机化学研究。

合欢醇和抗炎活性的 - 蒎烯^[9-11], 金合欢醇又是名贵香精的主要成分。

2.2 吸附法和水蒸气蒸馏法分析结果比较

文献[1]用吸附法研究了极易挥发的挥发性成分, 也就是白丁香鲜花的头香组成。本研究用水蒸气蒸馏法研究了白丁香的低沸点组成成分。比较两种研究结果, 可以看出: 不同提取方法得到的挥发性成分有所不同。直接吸附法得到的主要为萜烯、丁香醛系列化合物、金合欢烯类、桉树脑等极易挥发性成分, 且含量较大; 而水蒸气蒸馏法提取得到了以上大部分化合物, 但含量较少; 另外还得到了沸点变化范围较大、种类较多、具有重要应用价值的苯乙醇、丁香醛系列化合物、(Z)-3-己烯-1-醇、2-甲氧基-4-乙烯基苯酚、金合欢醇、9-十九烯、烷烃类等化合物。将这两种方法结合应用于白丁香鲜花的低挥发性成分的研究, 揭示其提取物作为头香、昆虫信息素、香料和抗菌抗炎药物等用途具有重要的意义。另外本研究发现用水蒸气提取白丁香花得到的挥发油收率很高, 因而这一研究对今后开发新的昆虫信息素、新的香料和新的抗炎抗菌药物来源具有重要的价值, 也为开发利用这一植物资源提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 李祖光, 李新华, 高建荣, 等. 白丁香鲜花在不同开花期的香气化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(4): 63-66.
- [2] . . . L
(香料化学)[M]. 刘树文, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 1984: 61.
- [3] 陈煜强, 刘幼君. 香料产品开发及应用[M]. 上海: 上海科技出版社, 1994: 6-12, 338-342.
- [4] 精细化工词典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 32.
- [5] 化学工业出版社. 日用化学品[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999: 133, 151, 168.
- [6] ANDERSSON S L, NILSSON A, GROTH I, et al. Floral scents in butterfly-pollinated plants: possible convergence in chemical composition[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2002, 140: 129-153.
- [7] KRECK M, MOSANDL A. Synthesis, structure elucidation, and olfactometric analysis of lilac aldehyde and lilac alcohol stereoisomers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 2722-2726.
- [8] PLEPYS D. Odour-mediated nectar foraging in the silver Y moth[R]. Autographa Gamma, Doctoral Dissertation, 2001-11-30.
- [9] 吕金顺. 甘肃产女贞子挥发油化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(3): 167-169.
- [10] MARTIN S, PADILLA E, OETE M A, et al. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum fruticosum*[J]. Planta Med, 1993, 59(6): 533-536.
- [11] LORENTE I, OCETE M A, ZARZUELO A, et al. Bioactivity of the essential oil of *Bupleurum fruticosum*[J]. J Nat Prod, 1989, 52(2): 267-272.

wavelength at 360 nm under room temperature. Results: There was a good linear relationship when the sample size of quercitrin was at a range of 0.40~2.00 μ g ($r=0.9996$), and the recovery was 96.88% with RSD at 1.68%. Conclusion: This method is simple, stable, fast, and reproducible and without the interference of impurity. It can be used for the content determination of quercitrin in *Urtica*.

Key words: HPLC; *urtica*; quercitrin; content determination

中图分类号: 0633

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0288-03

荨麻俗称藨麻(又名蝎子草、火麻草等),属荨麻科(Urticaceae)多年生草本植物,由于其生命力极强,故而分布很广。荨麻属植物全世界约有35种,主要分布于北半球温带和亚热带,中国产23种^[1],荨麻属多种植物食药两用,我国有麻叶荨麻、宽叶荨麻、异株荨麻、裂叶荨麻等13个民间药用种^[2],在中国西南至东北部均有分布,其中陕西主要分布有麻叶荨麻和裂叶荨麻等。

荨麻的茎和叶,含有丰富的蛋白质、多种维生素、胡萝卜素及铁、锌、锰、铜、铬、镍、钴^[3]等多种微量元素。既是优质饲料又是保健食品。近年来,中国农科院草原研究所的科研人员,成功地培育出保健蔬菜-杂交荨麻。其地上嫩茎嫩叶是特种蔬菜,地下根部是宝贵药材。荨麻全草可以入药,其味苦、辛,性温,有小毒。具有祛风通络、活血止痛、平肝定惊、消积通便、消炎解毒等功效。用于风湿关节炎、前列腺炎及前列腺增生等的治疗^[4-5],对该植物的化学成分研究表明,含有黄酮、皂甙、多糖等多种活性成分^[5-6],槲皮苷则是其主要有效成分^[6],但对其含量测定的研究未见报道,本文采用高效液相色谱法测定了其中槲皮苷的含量,为荨麻药材的质量控制提供了新的测定方法。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与药品

日本岛津高效液相色谱仪(包括LC-10ATvp泵、SPD-10Avp紫外检测器和SPD-M10Avp二极管阵列检测器);7725型手动进样阀 美国Rneodyne公司;ANASTAR色谱工作站 奥泰科技有限公司;KQ-250B型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

槲皮苷对照品 中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯,其它试剂均为分析纯;荨麻植物药材直接从产地收集,均由榆林市药品检验所杨宏华教授鉴定。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

C₁₈柱(150mm×4.6mm,5 μ m);流动相为甲醇-0.2%磷酸(体积比50:50;流速为1.00ml/min;柱温为室温;检测波长为360nm;流速1.0ml/min。在该色谱条

件下槲皮苷的保留时间是10.56min。

1.2.2 溶液的配制

1.2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的槲皮苷对照品适量,以甲醇溶解制成浓度为0.20mg/ml的溶液,经0.45 μ m微孔滤膜过滤,备用。

1.2.2.2 供试品溶液的制备 分别精密称取干燥至恒重的荨麻粉末(100目)2.5g,各加入30ml甲醇液,超声提取30min,过滤得提取液,滤渣再各加20ml甲醇液,超声提取20min,过滤得提取液,合并两次提取液。将提取液经0.45 μ m滤膜过滤,备用。

1.2.3 标准曲线和线性范围

精确吸取对照品溶液(0.20mg/ml)2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μ l,分别进样3次,测定槲皮苷的峰面积值,以进样量(μ g)为横坐标,色谱峰峰面积为纵坐标作图,得回归方程为: $Y=2.0 \times 10^6 X + 23632$, $r=0.9996$,进样量在0.40~2.00 μ g范围内线性关系良好。

1.2.4 精密度的实验

精密吸取对照品溶液10 μ l,按选定的“色谱条件”进样测定重复5次,结果槲皮苷对照品峰面积的RSD为1.64%。

1.2.5 重现性实验

精密称取烘至恒重的荨麻根粉末(100目)2.5g 5份。按“供试品溶液的制备”进行平行提取,在选定“色谱条件”下测定其含量,结果重现性良好,RSD为1.36%($n=5$)。

1.2.6 稳定性实验

取供试品溶液,按每2h进样1次,测定峰面积,结果供试品溶液在8h内稳定,槲皮苷峰面积的RSD为0.91%($n=5$)。

1.2.7 回收率实验

精密称取已知含量的荨麻干燥粉末(100目)2.5g,加入适量槲皮苷对照品液,照供试品测定方法提取测定,计算回收率,结果平均回收率为96.88%,RSD 1.68%($n=5$)。

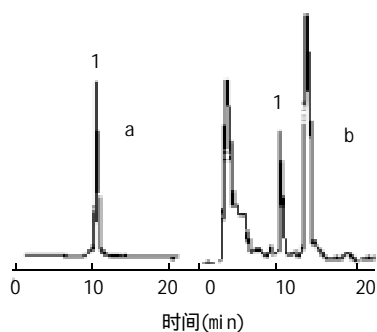
1.2.8 槲皮苷含量测定

取不同的荨麻样品各3份,按“供试品溶液的制备”进行提取,在选定“色谱条件”项下按外标法

以峰面积计算,对其槲皮苷含量进行测定。结果见表1。色谱图见图1。

表1 采集药材中槲皮苷含量(n=3)
Table 1 Determination of quercitrin in collected herb sample (n=3)

样品来源	测定结果(%)	相对标准偏差 RSD(%)
榆林(地上部分)	0.016	1.55
榆林(地下部分)	0.028	1.32
神木(地上部分)	0.012	1.56
神木(地下部分)	0.018	1.01



a. 标准物; b. 样品

图1 槲皮苷色谱图

Fig.1 Chromatograms of quercitrin

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

探索了高效液相色谱法的流动相,比较了甲醇-0.2%磷酸(体积比40:60;50:50;60:40);乙腈-0.2%磷酸(30:70;50:50)。结果发现:选用甲醇-0.2%磷酸(体积比50:50)为流动相进行分离,效果较好。经多次测试,系统具有很好的重复性和稳定性。且保留时间适

中,峰形较好并可与杂质完全分离。

对标准品槲皮苷在200~600nm范围内进行扫描,选择最大吸收峰波长,结果表明紫外区有两个吸收峰:在选用258nm波长下测定时,色谱峰中槲皮苷与其他组分分离不完全,测定波长改用360nm,同时选用本实验的流动相系统,槲皮苷与其他组分色谱峰得到完全分离。

2.2 样品含量分析

实验表明槲皮苷含量与产地和生长部位有关,其地下部分高于地上部分。

2.3 根据本品含量测定的结果,高效液相色谱法可以较好分离出荨麻的主成分峰和杂质峰,能反映样品的真实含量,方法简便、准确、灵敏有利于药品质量的控制。

国内外的科研成果证实,荨麻是很有经济价值的野生植物和农作物,不仅可做药材而且可供纤维、食物、和优质饲料。荨麻的茎皮纤维韧性好、拉力强、光泽好、易染色,可作纺织原料,或制麻绳、编织地毯等。荨麻用途多,分布广,资源丰富应该积极开发利用这一宝贵野生资源。

参考文献:

- [1] 侯宽昭. 中国种子植物科属辞典[M]. 修订版. 北京: 科学出版社, 1982.
- [2] 王梦月, 卫莹芳. 荨麻属植物在民间的药用情况调查[J]. 中国民族民间医药杂志, 2001, 53: 345-346.
- [3] 秦元满, 孙良鹏, 马奎蓉, 等. 荨麻中微量元素测定及其防治心脑血管疾病可能性探讨[J]. 中国临床康复, 2006, 33(8): 7556.
- [4] 王月梦, 卫莹芳, 史炎. 荨麻多糖药理作用初步研究[J]. 中药材, 2001, 24(9): 666-667.
- [5] ATAA S, et al. J Phatm. Sa, 1995, 36(6): 415.
- [6] 王梦月, 李外, 李晓波. 荨麻水溶性化学成分研究[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(24): 1853-1855.



科学家揭示加速细胞分裂的酶的作用机理

英国科学家在最新一项研究中揭示了促使细胞分裂的一种关键酶的作用机理。这一成果是癌症新疗法研究领域的一项重要突破。

作为机体自然发展过程中的组成部分,细胞分裂并形成两个同样的细胞,但当细胞以不正常方式分裂时,肿瘤就可能形成。研究显示,一种被称为有丝分裂激酶的物质不仅参与正常细胞分裂,也会加速癌细胞复制。不过迄今,科学家对这种酶如何帮助细胞分裂知之甚少。

据最新出版的《自然》杂志报道,英国曼彻斯特大学和纽卡斯尔大学的研究人员共同发现了这种酶的作用机理。

研究人员说,酶是加速或催化机体化学反应的蛋白质。他们研究的有丝分裂激酶是激酶中的一种,这种酶利用磷酸盐催化反应促进细胞分裂。

负责这项研究的安德鲁·夏罗克斯说,他们发现,如果对有丝分裂激酶的活动不加以控制,细胞无节制分裂,就会导致肿瘤形成。但如果用化学抑制剂阻止它们的活动,细胞就不再分裂,癌细胞也就不能扩散。

研究人员说,揭示有丝分裂激酶的功能和作用机理是关键性一步,今后这种酶将在抗癌新药研究中充当标靶角色。