

- [6] WISSING S A, KAYSER O, MULLER R H. Solid lipid nanoparticles for parentera drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56(9): 1257-1272.
- [7] SAWANT K K, DODIYA S S. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2008, 2(2): 120-135.
- [8] QIU K F, HUANG S H, CAI B L, et al. Optimization of triamcinolone acetonide-loaded solid lipid nanoparticles formula by central composite design and response surface methodology [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2012, 29(10): 920-924.
- [9] CHENG Y, PING Q N. Supercritical fluid precipitation technology and its application in pharmaceuticals [J]. *Prog Pharm Sci(药学进展)*, 2004, 28(2): 63-67.
- [10] YE B B, YUAN H, DU Y Z, et al. Supercritical assisted atomization for preparation of solid lipid nanoparticles [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2011, 28(3): 247-251.
- [11] CHEN T, HOU S X, WANG Y Y, et al. Release profile of compound liposomes entrapped with vincristine sulfate and mitoxantrone chlorhydric acid *in vitro* and their distribution in mice [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2006, 41(12): 1170-1175.
- [12] WANG Y Z, ZHENG J X, HU H Q, et al. Determination of the entrapment efficiency of β -elemene solid lipid nanoparticles by method of coagulation-filtration [J]. *J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报)*, 2007, 24(5): 271-275.

收稿日期: 2011-12-14

HPLC 测定维药恰玛古儿药材中槲皮素的含量

海力茜·陶尔大洪, 马桂芝, 王菁, 古娜娜·对山别克(新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054)

摘要: 目的 建立维药恰玛古儿药材中槲皮素的含量测定方法, 为其制定质量标准提供依据。方法 采用 HPLC 对恰玛古儿药材中槲皮素进行含量测定。采用 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇-0.1%磷酸水溶液(50:50), 检测波长: 360 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 $^{\circ}$ C。结果 槲皮素进样量在 2.525 6~15.153 6 μ g·mL⁻¹ 时, 与峰面积值呈良好线性关系($r=0.999 7$)。平均加样回收率为 101.4%, RSD 为 1.1% ($n=6$)。结论 所建立的方法简便、快捷, 重复性好, 可用于该药材的质量评价。

关键词: 恰玛古儿; 槲皮素; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)01-0169-03

Content Determination of Quercetin in *Brassica Rapa* L. by HPLC

TAOERDAHONG Hailiqian, MA Guizhi, WANG Jing, DUISHANBIEKE Gunana(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the content determination method of quercetin in *Brassica rapa* L., and so as to provide reference for its quality control. **METHODS** The content of quercetin in *Brassica rapa* L. was determined by HPLC. The chromatographic conditions were as follows: Kromasil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μ m), mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid(50:50), flow rate 1.0 mL·min⁻¹, column temperature at 30 $^{\circ}$ C, detection wavelength 360 nm. **RESULTS** Quercetin showed a good linear relationship in the range of 2.525 6~15.153 6 μ g·mL⁻¹, the average recovery was 101.4% and RSD was 1.1%. **CONCLUSION** The established method is simple and rapid with good reproducibility, and can be used for the quality control of *Brassica rapa* L.

KEY WORDS: *Brassica rapa* L.; quercetin; HPLC

恰玛古儿植物学名为芜菁(*Brassica rapa* L.), 种子植物门双子叶植物纲十字花科(*Cruciferae*)芸苔属, 芸苔种, 芜菁亚种二年生草本植物, 夏秋两季采收。来源为十字花科植物芜菁的干燥块根。药食同源, 历史悠久。恰玛古儿具有很高的药用价值, 始载于《名医别录》, 味苦温, 无毒, 助消

化, 祛风, 镇咳, 驱腹胸寒气, 解热毒, 消肿, 强身^[1]。《维吾尔药志》记: 性温, 开胸顺气, 健胃消食, 解毒; 用于胸闷腹胀痛, 食欲不振, 疮疖肿毒等^[2]。恰玛古儿药材的主要成分之一黄酮类化合物具有抗炎、抗肝脏毒性、抗菌、抗病毒、防治高血压及动脉粥样硬化、提高免疫力的作用^[3-4]。

基金项目: 新疆维吾尔自治区少数民族科技骨干特培专项基金(200723105)

作者简介: 海力茜·陶尔大洪, 女, 教授 Tel: 13999879870

E-mail: hailiqian2471@sina.com

通过本课题组前期研究,首次从恰玛古儿药材中分离得到了槲皮素,槲皮素做为天然黄酮类化合物之一,具有抗炎、抗氧化、清除体内自由基的作用,对由ADP、胶原或凝血酶引起的血小板聚集及血栓形成也有抑制作用^[3],槲皮素的含量也可做为除总黄酮以外恰玛古儿药材中含量测定的另外一个指标成份。本实验以中国药典2010年版为依据,对不同产地的恰玛古儿药材中槲皮素进行含量测定,从而为恰玛古儿药材质量控制中的有效成分含量测定提供依据。

1 仪器与试剂

岛津半制备高效液相色谱仪(LC-6AD 高压泵,SPD-20A型紫外检测器,CBM-20A色谱工作站)(日本岛津公司);XS105型十万分之一电子天平、AL204型万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);Millipore超纯水仪制备(密理博中国有限公司)。槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:091-0712,按HPLC计,纯度为97.3%),所用试剂均为色谱纯,水为超纯水。

芜菁药材采自新疆伽师、阿图什、和田、吐鲁番、库车、叶城、伊宁、和静、阿克苏9个不同产地,经新疆医科大学药学院天药教研室帕丽达·阿不力孜教授鉴定为芜菁(*Brassica rapa* L.)的干燥块根。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

精密称取恰玛古儿药材粉末1.0089g(过60目筛,60℃干燥至恒重)置索氏提取器中,加30mL石油醚加热回流30min,弃去石油醚提取液,利用余温挥干残留石油醚,然后加入30mL80%甲醇和5mL20%盐酸加热回流60min,提取3次,过滤,合并滤液置100mL量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,再用0.45μm微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的槲皮素对照品5.0512mg,用甲醇定容于10mL量瓶中,浓度为0.5051mg·mL⁻¹,即为对照品储备液。然后精密量取1mL,置于10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得0.0505mg·mL⁻¹的槲皮素对照品溶液。

2.3 色谱条件

Kromasil C₁₈柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(50:50),检测波长:

360nm,流速:1.0mL·min⁻¹,柱温:30℃。分别按“2.1”和“2.2”项下方法制备供试品及对照品溶液,按上述色谱条件,分离较好,峰形对称,色谱图见图1。按槲皮素的峰面积计算,理论板数≥2500。

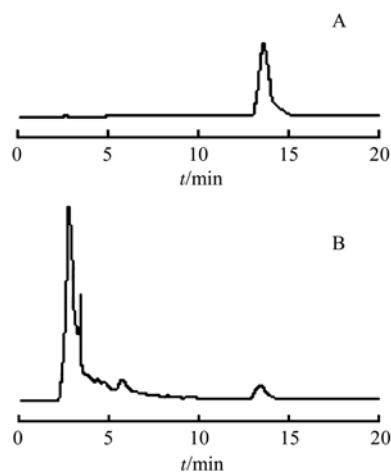


图1 高效液相色谱图
A-槲皮素对照品; B-恰玛古儿样品

Fig 1 HPLC chromatogram
A-control; B-*Brassica rapa* L.

2.4 标准曲线的绘制

按“2.3”项下色谱条件,精密吸取槲皮素对照品溶液0.5,1.0,1.5,2.0,3.0mL,分别置于10mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别取10μL进样,测定槲皮素峰面积积分值,以浓度-峰面积为坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=13\ 678X-5\ 816.7$, $r=0.999\ 7$,结果表明,对照品浓度为2.5256~15.1536μg·mL⁻¹时,与峰面积值呈良好线性关系。

2.5 仪器精密度试验

取槲皮素对照品溶液进样10μL,连续进样6次,以峰面积(A)计算,得RSD为1.1%,结果表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取恰玛古儿药材粉末约1g,精密称定,按“2.1”项下方法分别制备5份样品,进样10μL,按“2.3”项下色谱条件测定含量,得RSD为1.3%,结果表明重复性良好。

2.7 稳定性试验

取恰玛古儿药材粉末约1g,精密称定,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,分别于0,2,4,8,12h进样,按“2.3”项下色谱条件测定含量,结果槲皮素在12h内稳定,RSD为1.9%。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的恰玛古儿粉末, 分别精密加入槲皮素对照品置于 10 mL 量瓶中, 按“2.1”项下方法操作, 按“2.3”项下色谱条件测定, 得加样回收率为 101.4%, RSD 为 1.6%, 结果见表 1。

2.9 样品测定

精密称取新疆 9 种不同产地的恰玛古儿, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液。每个样品重复操作 5 次, 按“2.3”项下色谱条件测定, 均进样 10 μ L, 外标法计算槲皮素含量, 结果见表 2。

表 2 新疆 9 种不同产地恰玛古儿槲皮素含量(n=5)

Tab 2 Quercetin content in *Brassica rapa* L. from Xinjiang 9 different origins(n=5)

产地	伽师	阿图什	和田	吐鲁番	库车	叶城	伊宁	和静	阿克苏
含量/%	0.55	0.68	0.73	0.47	0.74	0.81	0.51	0.41	0.86

3 讨论

对于色谱柱填充剂的选择, 反相色谱系统使用非极性填充剂, 药典中关于槲皮素的含量测定均采用了十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 故本实验也采用了此类填充剂。对于检测波长的选择, 先用紫外对槲皮素对照品在 200~490 nm 处进行扫描, 结果发现在 254 nm 和 360 nm 处均有较大吸收, 但在 254 nm 处杂质峰较为严重, 故选用 360 nm 做为本实验的检测波长。

在实验过程中采用了乙腈-水和甲醇-水 2 种流动相进行比较, 结果发现乙腈-水做为流动相时, 出峰时间较长, 所以本实验采用甲醇-水做为流动相, 但是当使用单一甲醇做为流动相时, 拖尾现象严重, 加入磷酸可以有效防止拖尾, 通过试验,

表 1 槲皮素回收率试验

Tab 1 Quercetin recovery test

实际量/ μ g	加入量/ μ g	测得量/ μ g	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
5.54	2.53	8.09	100.9		
5.54	2.53	8.05	99.6		
5.54	5.05	10.58	99.8	101.4	1.6
5.54	5.05	10.71	102.2		
5.54	7.58	13.23	102.0		
5.54	7.58	13.33	103.8		

发现甲醇-0.1%磷酸水溶液(50 : 50), 峰形较好, 分离佳。方法学实验表明, 该方法准确性高, 重复性好, 可作为恰玛古儿质量控制的方法。

REFERENCES

- [1] Uighur Herbal Medicines Standard (Book A)(维吾尔医常用药材标准) [M]. Urumuqi: Xinjiang Autonomous Region Health Department Press, 1993: 8.
- [2] LIU Y M. Pharmacography of Uighur (Part Two) (维吾尔药志) [M]. Urumuqi: XinJiang Science Technology Publishing House, 1999: 334-335.
- [3] GAO F F, ZHAO D, DENG J. Progress research of chemical constituents and pharmacological activities of *Lysimachia* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(10): 907-915.
- [4] LI H R, GAO F X. Determination of Luteolin in celery seed extract by HPLC [J]. *Her Med*(医药导报), 2010, 29(9): 1199-1201.

收稿日期: 2011-12-07

HPLC 测定怀地黄中桃叶珊瑚苷的含量

李晓坤, 张华锋, 冯卫生, 刘炯, 张杰, 杨云*, 卫冰(河南中医学院药学院, 郑州 45008)

摘要: 目的 测定不同品种、不同产地怀地黄中桃叶珊瑚苷的含量, 初步对怀地黄种质资源进行评价。方法 采用 HPLC, Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 0.5 μ m), 流动相为甲醇-水(5.5 : 94.5), 检测波长为 206 nm。结果 桃叶珊瑚苷在 0.053 5~1.284 μ g 间线性关系良好, 回归方程为 $Y=539.696X+3.581.6$ ($r=0.999.9$), 回收率分别为 99.75%(鲜地黄)和 99.61%(生地黄), RSD 分别为 2.86%和 2.15%($n=6$); 不同品种、不同产地怀地黄中桃叶珊瑚苷含量不同。结论 本法操作简单、灵敏、稳定, 适用于怀地黄中桃叶珊瑚苷的含量测定。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAI06B02)

作者简介: 李晓坤, 女, 硕士生, 讲师 Tel: (0371)65680605 E-mail: Li96052122@126.com *通信作者: 杨云, 女, 硕士生, 教授 Tel: (0371)65680605 E-mail: yyun@china.com.cn