

HPLC 波长切换法测定满山红中杜鹃素和槲皮素的含量

张朝坤 张振秋

【摘要】 目的 建立满山红中杜鹃素和槲皮素的含量测定方法,为满山红质量标准的研究提供科学依据。方法 采用高效液相色谱法同时测定满山红中杜鹃素和槲皮素的含量;色谱条件为 Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱,以甲醇-0.2% 的磷酸溶液(58:42)为流动相;检测波长为 0~10 min 299 nm, 10~20 min 360 nm。结果 杜鹃素在 0.077 8~0.389 μg、槲皮素在 0.018 8~0.169 2 μg 范围内线性关系良好;杜鹃素平均加样回收率为 97.0%, RSD 为 1.4%;槲皮素平均加样回收率为 98.0%, RSD 为 1.3%。结论 本方法精密度高,分离度良好,可用于同时测定满山红中杜鹃素和槲皮素的含量。

【关键词】 高效液相色谱法;满山红;杜鹃素;槲皮素

满山红为杜鹃花科植物满山红(*folium rhododendri daurici*)的叶,具有止咳、祛痰的功效,用于治疗急、慢性支气管炎^[1]。其主要有效成分为杜鹃素、槲皮素等黄酮类成分,本文采用高效液相色谱法同时测定这两种成分的含量,为控制满山红药材的质量提供科学的依据。

1 仪器与试剂

1.1 Agilent1000(安捷伦公司);AR2140 电子分析天平(奥豪斯公司);杜鹃素对照品(批号 850-9802)、槲皮素对照品(批号 100081-200406)。中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯,满山红药材购于河北安国,产地黑龙江。

1.2 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.2% 磷酸溶液(58:42);波长切换见表 1;柱温:30℃;流速:1 ml/min,进样体积 10 μl。

表 1 检测波长切换表

| 时间(min) | 0~10 | 10~20 |
|---------|------|-------|
| 波长(nm) | 360 | 299 |

2 方法和结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取在 120℃ 减压干燥至恒重的杜鹃素对照品 7.78 mg,槲皮素对照品 1.88 mg,分别置于 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 分离条件的选择^[2] 用甲醇-水作流动相,槲皮素和杜鹃素不能获得良好的分离,而且峰有拖尾;在流动相中加入 0.2% 磷酸溶液可使分离效果和峰型得到较大改善,同时试验选用不同比例的甲醇和磷酸溶液分离槲皮素和杜鹃素,以磷酸溶液和甲醇的比例为 42:58(V/V)时样品中的槲皮素和杜鹃素达到完全分离,故试验选用甲醇-0.2% 的磷酸溶液(58:42)为流动相。色谱图见图 1、2、3。

2.3 供试品溶液制备^[1] 精密量取药材粉末 1.007 5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 甲醇 50 ml,称定重量,超声处

理 15 min,放冷,再称定重量,用 60% 甲醇补足减失的重量,滤过,即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取杜鹃素对照品溶液 1、2、3、4、5 μl,注入高效液相色谱仪,以进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为:Y = 110.68X - 61.87, r = 0.999 6;结果表明杜鹃素在 0.077 8~0.389 μg 范围内具有良好的线性关系;精密吸取槲皮素对照品溶液 1、3、5、7、9 μl,注入高效液相色谱仪,以进样量为横坐标、峰面积积分值为纵坐标,进行线性回归,得回归方程分别为:Y = 36.08X - 18.52, r = 0.999 6;结果表明槲皮素在 0.018 8~0.169 2 μg 范围内具有良好的线性关系。

3 方法学考察

3.1 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μl,重复进样 5 次,测定峰面积,计算得杜鹃素 RSD 为 1.9%,槲皮素 RSD 为 2.9%,表明仪器精密度良好。

3.2 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μl,分别于 0、2、4、6、8、10 h 各进样 1 次,测定杜鹃素峰面积,杜鹃素 RSD 为 1.6%,槲皮素 RSD 为 1.6%,表明供试品溶液在 10 h 之内稳定。

3.3 重复性试验 精密称取满山红样品 5 份,每份约 1 g,照供试品溶液制备方法制备,测定杜鹃素及槲皮素含量,计算得杜鹃素 RSD 为 2.4%,槲皮素 RSD 为 2.7%,表明方法重复性良好。

3.4 加样回收率试验 取已知含量药材 5 份,每份约 0.5 g (杜鹃素含量 1.354 6 mg/g;槲皮素含量 0.584 8 mg/g),精密称定,精密加入杜鹃素对照品溶液 10 ml 和槲皮素对照品溶液 7 ml(浓度为 0.047 mg/ml),照供试品溶液制备方法制备,求得平均回收率分别为 97.0%、98.0%;RSD 分别为 1.4%(n=5)、1.3%(n=5)。见表 2、3。

表 2 杜鹃素加样回收率试验考察结果

| 试验号 | 称样量(g) | 样品中杜鹃素含量(mg) | 杜鹃素加入量(mg) | 测定总量(mg) | 回收量(mg) | 回收率(%) |
|-----|---------|--------------|------------|----------|---------|--------|
| 1 | 0.520 0 | 0.704 5 | 0.778 | 1.477 6 | 0.699 6 | 99.3 |
| 2 | 0.504 8 | 0.683 8 | 0.778 | 1.444 0 | 0.666 0 | 97.4 |
| 3 | 0.513 7 | 0.695 9 | 0.778 | 1.440 5 | 0.662 5 | 95.2 |
| 4 | 0.504 2 | 0.683 0 | 0.778 | 1.440 0 | 0.661 8 | 96.9 |
| 5 | 0.532 0 | 0.720 6 | 0.778 | 1.472 7 | 0.694 7 | 96.4 |

表 3 槲皮素加样回收率试验考察结果

| 试验号 | 称样量(g) | 样品中槲皮素含量(mg) | 槲皮素加入量(mg) | 测定总量(mg) | 回收量(mg) | 回收率(%) |
|-----|---------|--------------|------------|----------|---------|--------|
| 1 | 0.520 0 | 0.304 1 | 0.329 | 0.634 0 | 0.305 0 | 100.3 |
| 2 | 0.504 8 | 0.295 2 | 0.329 | 0.615 9 | 0.286 9 | 97.2 |
| 3 | 0.513 7 | 0.300 4 | 0.329 | 0.624 9 | 0.295 9 | 98.5 |
| 4 | 0.504 2 | 0.294 9 | 0.329 | 0.616 2 | 0.287 2 | 97.4 |
| 5 | 0.532 0 | 0.311 1 | 0.329 | 0.630 5 | 0.301 5 | 96.9 |

4 样品测定

取三批药材各 1 g,按样品制备方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 10 μ l,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件分别测定杜鹃素和槲皮素的含量,结果见表 4。

表 4 不同批次满山红药材中杜鹃素和槲皮素的含量

| 批次 | 杜鹃素含量(mg/g) | 槲皮素含量(mg/g) |
|----|-------------|-------------|
| 1 | 1.259 8 | 0.563 7 |
| 2 | 1.354 6 | 0.584 8 |
| 3 | 1.215 9 | 0.541 8 |

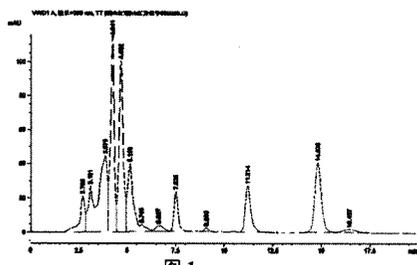


图 1

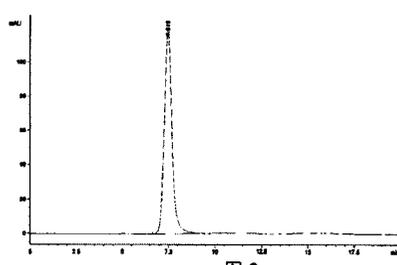


图 2

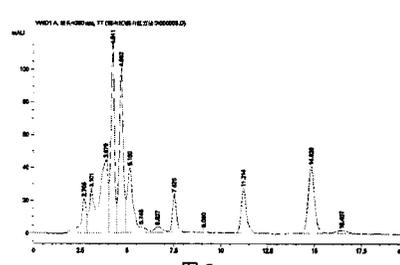


图 3

图 1 杜鹃素对照品高效液相色谱图

图 2 槲皮素对照品高效液相色谱图

图 3 供试品高效液相色谱图

5 讨论

本试验对三批满山红药材进行含量测定,结果表明三批含量接近,表明该方法准确、可靠。

通过对杜鹃素对照品和槲皮素对照品的紫外光谱的波长扫描选择了各自的最大吸收波长作为高效液相的检测波长,为了能够实现在其他色谱条件不变的情况下在两种成分各自的最大吸收波长下测定两种成分的含量,我们选择了波长切换方法,能够很好的达到实验目的。本试验采用高效液相色

谱法,同时测定满山红中两种黄酮的含量,进行多指标分析,方法快速、准确、稳定、方便可行,为控制穿心莲药材的质量提供科学依据。

参 考 文 献

- 1 《中国药典》2005 年版一部。
- 2 潘馨. RP. HPLC 测定几种闽产杜鹃中槲皮素的含量. 药物分析杂志, 2002, 22(6): 436-437.

中心静脉导管置管引流后注博莱霉素和白细胞介素-2 治疗肺癌并大量恶性胸腔积液

梁永 刘航 龙健中 冯坚

【摘要】 目的 研究中心静脉导管置管引流后联合注博莱霉素和白细胞介素-2 在肺癌并大量恶性胸腔积液治疗中的疗效和安全性。方法 将 178 例肺癌并大量恶性胸腔积液患者的随机分为三组: A 组 60 例,为实验组,胸腔注射博莱霉素和白细胞介素-2 治疗; B 组 59 例,为对照组,胸腔仅注射博莱霉素治疗; C 组 59 例,为对照组,胸腔仅注射白细胞介素-2 治疗,观察各组的疗效和并发症及进行统计处理。结果 A 组完全缓解率 28/60(46.67%),有效率 54/60(90.00%); B 组完全缓解率 14/59(23.73%),有效率 39/59(66.10%); C 组完全缓解率 13/56(22.03%),有效率 37/59(62.71%), A 组有效率和完全缓解率明显高于 B 组、C 组,统计学处理有非常显著意义。结论 中心静脉导管置管闭式引流后胸腔注博莱霉素和白细胞介素-2 治疗肺癌并大量恶性胸腔积液效果好,操作简单、安全,改善了生活质量,值得推广。

【关键词】 恶性胸腔积液;中心静脉导管;博莱霉素;白细胞介素-2

恶性胸腔积液是恶性肿瘤晚期的常见并发症,约 50% 以上的肺癌患者在疾病过程中将出现胸腔积液,一旦出现胸腔积液,患者的生活质量将明显下降,中位生存时间不超 3 个月^[1],而在基层医院,常见到因延误治疗而导致的大量胸腔积

液。为积极有效地治疗晚期恶性肿瘤所致的胸腔积液,减轻患者痛苦,改善生活质量^[2],自 2003 年 4 月至 2007 年 4 月,我们对部分大量恶性胸腔积液的患者,应用中心静脉导管置管闭式引流后胸腔注博莱霉素及白细胞介素-2 治疗,取得了较为满意的疗效,现报告如下。

1 资料与方法