

降脂轻身茶中槲皮素的含量测定

袁宙新, 刘忠达

(浙江省丽水市中医院, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 利用反相高效液相色谱法测定降脂轻身茶中槲皮素的含量, 为降脂轻身茶的质量控制提供依据。方法 采用 Diamonsil TM(钻石) C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水-磷酸(55:45:0.2)流动相, 流速为 0.9 mL/min, 检测波长为 254 nm。结果 槲皮素进样量在 0.05~1.0 μg 范围内与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 96.2%, RSD=1.88% (n=5)。结论 所建立的方法简便、准确、可靠, 可作为制剂的质量控制方法。

关键词: 槲皮素 高效液相色谱法 含量测定

中图分类号 R286.0

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2007)01-0028-02

To Determine Content Determination of Quercetin in Jiangzhi Qingshen Tea

Yuan Zhouxin, Liu Zhongda

(Lishui Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lishui, Zhejiang, China 323000)

Abstract Objective To determine the content of quercetin in Jiangzhi Qingshen tea with RP-HPLC, to provide the evidence for the quality control. **Methods** Diamonsil TM (diamond) C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. Mobile phase was carbinol-water-phosphoric acid (55:45:0.2); flow rate was 0.9 mL/min. Detection wavelength was 254 nm. **Results** Quercetin presented a good linear relation with the peak area in the range of 0.05~1.0 μg. The average recovery rate was 96.2%, RSD=1.88% (n=5). **Conclusion** This method is simple, convenient, accurate and reliable. It can be used to control the quality of Jiangzhi Qingshen tea.

Key words: quercetin; HPLC; content determination

降脂轻身茶系加有厚朴、决明子、山楂、枳壳、枳实、白术等 9 味中药的袋泡茶。长期临床应用表明, 它具有降脂减肥、消食化积、润肠通便等功效, 且疗效确切。处方中食凉茶为蜡梅科植物柳叶蜡梅 *Chimonanthus Salicifolius* S. Y. Hu 的干燥叶, 为方中君药, 其中含有槲皮素。笔者采用高效液相色谱法测定了降脂轻身茶中槲皮素的含量, 为该药的质量控制提供了依据。

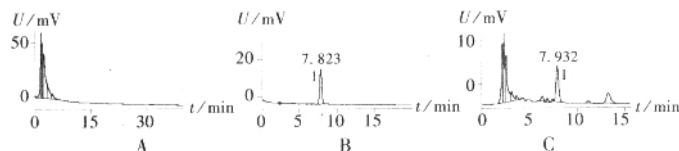
1 仪器与试剂

美国 Micro-Tech Ultro-plus II 高效液相色谱仪, 英谱色谱数据工作站, KQ-400DB 型超声波清洗器。槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所, 纯度>99%, 批号为 0081-9304); 降脂轻身茶(浙江省丽水中医院制剂室)。甲醇为色谱纯, 水为二次重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil TM(钻石) C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸(55:45:0.2) 流速: 0.9 mL/min 检测波长: 254 nm 柱温: 室温。理论塔板数以槲皮素峰计应不低于 3000。在上述色谱条件下, 降脂轻身茶样品中槲皮素色谱峰与其他成分峰分离良好, 缺食凉茶样品无干扰, 见图 1。



1. 槲皮素
A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液
图 1 高效液相色谱图

2.2 供试品溶液制备

取本品约 0.6 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 2 mL 盐酸及 20 mL 甲醇, 超声处理 30 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

标准曲线制备 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的槲皮素

对照品 2.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 制成质量浓度为 0.050 mg/mL 的溶液, 精密吸取 1, 2.5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积。以槲皮素进样量为横坐标、色谱峰峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果表明, 槲皮素进样量在 0.05~1.0 μg 范围内与峰面积线性关系良好, 回归方程 $Y = 480\,744.7X - 2\,912.6$, $r = 0.999\,9$ 。

专属性考察 按处方比例及生产工艺, 制备缺食凉茶的空白对照样品, 按供试品制备方法处理得到阴性对照品溶液, 并将其测定结果与对照品溶液的进行比较。结果在与槲皮素对照品相应保留时间的位置上无吸收峰, 表明在该试验条件下样品中其他组分对槲皮素测定无干扰(见图 1)。

精密度试验 取对照品溶液 5 μL, 连续进样 5 次, 测得槲皮素峰面积的 RSD 为 0.95%。

稳定性试验 将供试品溶液在室温下放置, 于 0, 2, 4, 6, 8 h 时分别进样, 测得槲皮素峰面积的 RSD 为 1.02%。

重现性试验 分别称取同一批号(批号为 040911) 样品 5 份, 按照供试品溶液制备方法操作, 精密吸取供试品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 分别计算含量。结果槲皮素平均含量为 0.107 2 mg/g, RSD 为 1.93%, 表明方法具有良好的重现性。

加样回收试验 取已知含量的样品(批号为 040911), 按对照品加入量的不同设高、中、低 3 组, 每组取样两份, 分别加入对照品, 照上述供试品溶液制备方法操作, 测定含量。结果见表 1。

表 1 槲皮素加样回收试验结果

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	(%)	RSD(%)
0.031 92	0.033 60	0.064 93	98.24		
0.031 90	0.033 60	0.064 72	97.68		
0.030 92	0.067 20	0.098 21	100.13	99.29	1.09
0.030 92	0.067 20	0.097 92	99.70		
0.030 88	0.100 80	0.131 30	99.60		
0.030 94	0.100 80	0.132 10	100.36		

2.4 样品含量测定

按供试品溶液制备方法和含量测定方法, 分别测定 5 批降脂

高效液相色谱法测定去氧氟尿苷含量及其有关物质

郝万红¹, 孙红梅²

(1. 山东万杰高科技股份有限公司制药厂, 山东 淄博 255213; 2. 山东淄博万杰医院, 山东 淄博 255213)

摘要: 目的 用高效液相色谱法(HPLC 法)测定去氧氟尿苷的含量及其有关物质。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(1:1), 检测波长为 269 nm, 流速为 0.8 mL/min。结果 去氧氟尿苷质量浓度在 10.0~200.4 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.9999$ ($n=5$), 平均回收率为 100.2%, $RSD=0.14\%$ 。结论 HPLC 法简便、准确, 专属性好, 灵敏度高, 可用于去氧氟尿苷含量及有关物质的测定。

关键词: 去氧氟尿苷 含量测定 有关物质 高效液相色谱法

中图分类号 R927 R979.1+2

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2007)01-0029-02

Determination of the Content of Doxifluridine and Its Related Substances by HPLC

Hao Wanhong¹, Sun Hongmei²

(1. Pharmaceutical Factory, Shandong Wanjie High Tech. Stock Co., Ltd., Zibo, Shandong, China 255213;

2. Wanjie Hospital of Zibo, Shandong Province, Zibo, Shandong, China 255213)

Abstract Objective To establish HPLC method for determination of doxifluridine content and its related substances. **Methods** The column was Diamonsil-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-water (1:1). The detection wavelength was 269 nm. The flow rate was 0.8 mL/min. **Results** There was a good linear relationship with the range of 10.0~200.0 μg/mL for determination of the doxifluridine's content, $r=0.9999$ ($n=5$). The average recovery rate was 100.2%, $RSD=0.14\%$. **Conclusion** The method is simple, accurate, sensitive and can be used to determine the content and the related substances of doxifluridine.

Key words: doxifluridine; content determination; related substances; HPLC

去氧氟尿苷^[1](doxifluridine, 5'-DFUR)是 5-氟尿嘧啶(5-FU)的衍生物, 属抗代谢类抗肿瘤药。去氧氟尿苷合成过程中可能引入的杂质是中间体 5'-脱氧-2',3'-O-异丙基-5-氟尿苷(中间体 A), 笔者采用高效液相色谱法(HPLC 法)对去氧氟尿苷含量及已知的有关物质进行了测定。

1 仪器与试剂

日立高效液相色谱仪(日本日立), 包括 L-2130 型泵, L-2400 型紫外检测器, N2000 色谱工作站(浙大智达)。去氧氟尿苷(本厂自制); 去氧氟尿苷对照品(批号为 0404901, 山东省药品检验所标定, 含量按干燥品计为 99.6%); 中间体 A 对照品(批号为 20051102, 江阴市永达化工有限公司, 含量为 99.6%); 乙腈为 HPLC 级, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(1:1); 检测波长: 269 nm; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

2.2 检测波长选择

分别取去氧氟尿苷与中间体 A 对照品适量, 用流动相溶解并稀释成质量浓度为 10 μg/mL 的溶液, 在 190~400 nm 波长范围内

扫描, 二者均在 269 nm 波长处有最大吸收, 故选择 269 nm 作为测定波长。

2.3 专属性试验

分别取去氧氟尿苷与中间体 A 对照品约 20 mg, 精密称定, 用流动相溶解并稀释成质量浓度为 10 μg/mL 的溶液, 将 2 种溶液分别进样及等比例混合后进样, 各 20 μL, 记录色谱图(图 1)。去氧氟尿苷的保留时间为 3.6 min, 中间体 A 的保留时间为 6.9 min。可见在此色谱条件下两者能够完全分离。

2.4 线性关系考察

取去氧氟尿苷对照品约 25 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得去氧氟尿苷对照品溶液。精密量取对照品溶液适量, 用流动相稀释, 配制成质量浓度为 10.0, 20.0, 50.1, 100.2, 200.4 μg/mL 的系列

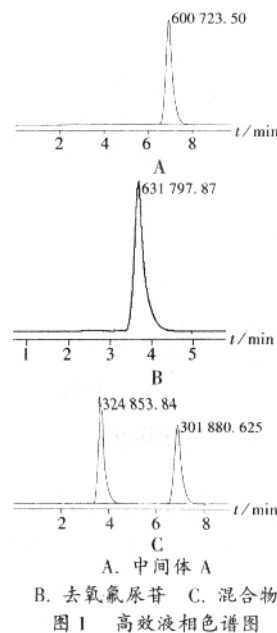


图 1 高效液相色谱图

轻身茶样品中槲皮素的含量, 结果批号为 040911, 040918, 041021, 041030, 041113 的降脂轻身茶中槲皮素的含量分别为 0.107 2, 0.104 5, 0.085 6, 0.101 7, 0.100 3 mg/g。

3 讨论

3.1 食凉茶浙江省丽水地区畲族习用药材, 其主要成分为黄酮类和生物碱类。

3.2 经试验比较, 在新选的几种流动相中甲醇-水-磷酸系统的峰形最好, 故确定以甲醇-水-磷酸(55:45:0.2)为流动相。以此为溶剂, 发现槲皮素在 254 nm 波长处有最大吸收, 因而确定 254 nm 为检测波长。

3.3 供试品溶液的最佳制备方法最终确定为加盐酸, 并以甲醇为提取溶剂, 超声提取 30 min。

参考文献:

- [1] 王宝. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994, 23-30.
- [2] 边清泉, 杨振萍. RP-HPLC 测定槐角丸中槲皮素和染料木素的含量[J]. 中成药, 2005, 27(7): 766-769.
- [3] 虞金宝, 吕武清. HPLC 测定田基黄注射液槲皮素含量[J]. 中成药, 2005, 27(1): 100-101.

(收稿日期 2006-05-10 修回日期 2006-07-18)