

# 苦丁茶中槲皮素成分分析

陈强\*

(新疆医科大学第六附属医院, 乌鲁木齐 830002)

[摘要] 目的:运用高效液相色谱法测定苦丁茶中的槲皮素成分含量。方法:流动相选取甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50),色谱柱使用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长 371 nm,柱温 30 °C。结果:苦丁茶中的槲皮素线性范围为 5.98 ~ 47.84 g·mL<sup>-1</sup>,所得的回归方程为  $Y = 7\,750.68 X + 1\,196.33$  ( $r = 0.999\,7$ )。结论:苦丁茶中槲皮素的含量可使用该方法准确测定。

[关键词] 苦丁茶; 高效液相色谱法; 槲皮素; 成分分析

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)18-0113-02

## Determination of Quercetin in *Ilex kudingcha* by HPLC

CHEN Qiang\*

(Sixth Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830002, China)

[Abstract] **Objective:** The content of quercetin in *Ilex kudingcha* was determined by HPLC. **Method:** The separation was performed on a Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol-0.4% phosphoric acid (50:50) as mobile phase, detected at 371 nm and 30 °C. **Result:** Quercetin was linear in the range of 5.98-47.84 g·mL<sup>-1</sup> ( $r = 0.999\,7$ ). **Conclusion:** The content of quercetin in *Ilex kudingcha* could be determined by HPLC precisely.

[Key words] *Ilex kudingcha*; HPLC; quercetin; content determination

苦丁茶属于传统的具有确切药用价值的纯天然保健饮料佳品之一,采集于冬青科植物大叶冬青 (*Folium Ilicis Latifoliae*) 的叶子。苦丁茶属于冬青科冬青属苦丁茶种常绿乔木,亦有茶丁、富丁茶、皋卢茶等称号,在广东、福建等地分布较多。苦丁茶中富含苦丁皂苷、黄酮类、咖啡碱、氨基酸、维生素 C、多酚类及蛋白质等 200 多种成分。苦丁茶成品清香有苦、而后甘凉,主要功效有清热消暑、利尿强心、润肺止咳、降血压、减肥、明目益智、生津止渴、活血通络、抑癌防癌、抗衰老等等。槲皮素是苦丁茶的主要有效成分。本实验采用高效液相色谱法测定苦丁茶中槲皮素含量,用于监测苦丁茶的质量。

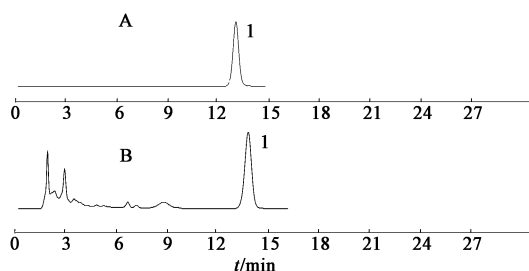
### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10AD VP 高效液相色谱仪、SPD-10A VP 紫外检测器以及 HT-230A 柱温箱, Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 岛津 UV-2401 型

紫外分光光度计, Sartorius BP211D 电子天平(精确到 0.01 mg), 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, 水为重蒸水, 其他皆为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 使用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50)为流动相, 检测波长 371 nm, 柱温 30 °C。理论板数按照槲皮素峰计算不低于 4 000。见图 1。



A. 槲皮素对照品; B. 苦丁茶样品; 1. 槲皮素

图 1 苦丁茶样品 HPLC

**2.2 对照品溶液的制备** 精确称取槲皮素对照品共 6.15 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加入流动相溶解并

[收稿日期] 20120426(007)

[通讯作者] \* 陈强, 本科, 从事医院药事管理、临床药学、药剂学研究, Tel: 13309913819, E-mail: xuweizhi1983@163.com

稀释至刻度,摇匀,即得(59.84 g·mL<sup>-1</sup>)。

**2.3 供试品溶液的制备** 精确称取本品内容物约 0.5 g,置圆底烧瓶中,加入甲醇-25% 盐酸溶液(4:1)20 mL,回流提取 1 h,取出,冷却后滤过,并将滤液转移至 100 mL 量瓶中,加入甲醇-25% 盐酸溶液(4:1)稀释至刻度值,摇匀,即得。

**2.4 方法学考察**

**2.4.1 线性关系考察** 准确量取对照品溶液各 1, 2, 4, 6, 8 mL,并置于 10 mL 的量瓶中,加入流动相稀释至刻度值,得到对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5(各溶液质量浓度分别为 5.98, 11.97, 23.94, 35.90, 47.84 g·mL<sup>-1</sup>)。以上每份溶液各进样 2 次,记录其峰面积,以峰面积 A 为纵坐标(Y),以质量浓度为横坐标(X),计算得。回归方程为  $Y = 7\ 750.68 X + 1\ 196.33$  ( $r = 0.999\ 7$ ),线性范围 5.98 ~ 47.84 g·mL<sup>-1</sup>。

**2.4.2 稳定性试验** 选取供试品溶液(批号 06040101),分别在 0, 1, 2, 4, 6 h 时进样,平均峰面积 RSD 0.86%,表明供试品在 6 h 内稳定。

**2.4.3 精密性** 取上述批号的供试品溶液共 6 份,按 2.1 中的色谱条件测定其峰面积,连续进行测定,得平均峰面积 RSD 0.85% ( $n = 6$ )。

**2.4.4 加样回收率** 取上述批号样品共 9 份,每份约 0.25 g,精密称定置圆底烧瓶中,分别加入适量对照品,按照 2.3 配制供试品溶液共 9 份,每份溶液进样 2 次,记录其峰面积,计算出加样的回收率,结果平均加样回收率为 98.25%,RSD 2.64%。见表 1。

表 1 苦丁茶中槲皮素加样回收率的测定 ( $n = 6$ )

| 称样量<br>/g | 理论量<br>/mg | 加入量<br>/mg | 测量值<br>/mg | 回收率<br>/% | 平均<br>回收率<br>/% | RSD<br>/% |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------------|-----------|
| 0.252 6   | 1.97       | 1.69       | 3.66       | 100.12    | 98.32           | 2.64      |
| 0.249 1   | 1.94       | 1.58       | 3.56       | 102.52    |                 |           |
| 0.249 8   | 1.95       | 1.62       | 3.54       | 98.53     |                 |           |
| 0.251 1   | 1.96       | 2.03       | 3.93       | 97.23     |                 |           |
| 0.251 0   | 1.96       | 2.09       | 3.96       | 95.58     |                 |           |
| 0.250 2   | 1.95       | 2.11       | 3.98       | 95.91     |                 |           |

**2.4.5 结果分析** 按照上述的方法和色谱条件对 3 个批号苦丁茶中槲皮素的含量进行了测定,见表 2。

表 2 不同批号苦丁茶样品含量测定 ( $n = 3$ )

| 批号       | 称样量     | 含量/% | RSD/% |
|----------|---------|------|-------|
| 06040106 | 0.501 3 | 0.78 | 1.56  |
| 06050104 | 0.500 3 | 0.79 | 0.90  |
| 06070102 | 0.500 7 | 0.78 | 1.29  |

**3 讨论**

槲皮素在甲醇、乙醇中均可溶解,微溶于水。本研究考察了不同提取溶剂和各种水解条件,结果表明选择甲醇-25% 盐酸(4:1)溶液为提取溶剂较好,而且直接回流水解 60 min 对苦丁茶中槲皮素提取效果更佳。在 200 ~ 400 nm 扫描,发现槲皮素甲醇溶液最大吸收波长为 371 nm。试验中槲皮素和其他组分在色谱峰中可得到较好分离,而且灵敏度高和杂质干扰较小。

**[参考文献]**

[1] 谭君,王伯初,祝连彩,等. 槲皮素金属配合物的药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(22):1688.

[2] 郭朝辉,蒋生祥. 高效液相色谱法测定甘肃金银花中槲皮素和木犀草素的含量[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(4):552.

[3] 张丽静,易新萍,李革,等. HPLC 法测定新疆贯叶连翘中芦丁及槲皮素的含量[J]. 新疆大学学报:自然科学版, 2007, 24(1):70.

[4] 王治平. HPLC 测定木芙蓉叶药材及其制剂芙蓉抗流感片中金丝桃苷的含量[J]. 中成药, 2007, 29(8):1230.

[5] Ayles H, Muyoyeta M. Isoniazid to prevent first and recurrent episodes of TB[J]. Trop Doct, 2006, 36:8386.

[6] Fernandez-Villar A, Leiro V, Botana M, et al. Hepatitis C Virus infection and isoniazid hepatotoxicity [J]. Chest, 2007, 132:736.

[7] Menzies D, Long R, Trajman A, et al. Adverse events with 4 months of rifampin therapy or 9 months of isoniazid therapy for latent tuberculosis infection: a randomized trial[J]. Ann Intern Med, 2008, 149(10):689.

[8] Lopez-Revuelta A, Sanchez-Gallego J I, Hernandez-Hernandez A, et al. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress[J]. Chem Biol Interact, 2006, 161(1):7991.

[9] Egert S, Wolfram S, Bosy-Westphal A, et al. Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans[J]. J Nutr, 2008, 138(9):1615.

[10] Lopez-Revuelta A, Sanchez-Gallego J I, Hernandez-Hernandez A, et al. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress[J]. Chem Biol Interact, 2006, 161(1):7991.

[责任编辑 顾雪竹]