

· 中药研究与开发 ·

HPLC 测定槐花药材不同部位芦丁和槲皮素含量

杜玉然¹, 贺福元^{1,2,3}, 周逸群¹, 谢相贵¹, 石继连^{1,2}1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中药药性与药效国家重点实验室, 湖南 长沙 410208;
3. 湖南中医药大学现代中药制剂制备与评价实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 比较槐花不同部位(槐花、槐米及枝梗)中芦丁和槲皮素的含量。方法 采用高效液相色谱法进行测定, Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 0.45 μm), 水-甲醇为流动相梯度洗脱, 流速 1 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长 256 nm, 进样量 20 μL。结果 芦丁含量为槐米>槐花>枝梗; 槲皮素含量整体较低, 且槐花>槐米>枝梗。结论 槐花各部位芦丁含量较高, 且含量差别不大。槐花中的槲皮素含量明显高于槐米及其枝梗。

关键词: 槐花; 不同部位; 芦丁; 槲皮素; 含量比较

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2012.12.016

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2012)12-0043-03

Content Determination of Rutin and Quercetin in Different Parts of *Sophora Japonica* L. Medicinal Materials by HPLC DU Yu-ran¹, HE Fu-yuan^{1,2,3}, ZHOU Yi-qun¹, XIE Xiang-gui¹, SHI Ji-lian^{1,2} (1. Department of Pharmaceutics, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Property and Pharmacodynamic Key Laboratory of Chinese Materia Medica, State Administration of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. Pharmaceutical Preparation Technology and Evaluation Laboratory of Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Abstract: **Objective** To compare rutin and quercetin content of different parts (flower, bud and pedicel) of *Sophora Japonica* L.. **Methods** HPLC method was used with Ultimate XB-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 0.45 μm), water and methanol as solvent system with gradient elution. The flow rate was 1 mL/min, column temperature was 35 °C, detection wavelength was set at 256 nm, and injection volume was 20 μL. **Results** The content of rutin was bud>flower>pedicel. The content of quercetin was low on the whole, and in sequence of flower>bud>pedicel. **Conclusion** In the different parts of *Sophora Japonica* L., rutin content is high with little difference. Quercetin content of flower is significantly higher than in bud and pedicel.

Key words: *Sophora japonica*; different parts; rutin; quercetin; comparison of content

槐花为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花及花蕾, 前者称“槐花”, 后者称“槐米”, 具有凉血止血、清肝泻火的功效^[1]。现代研究表明, 其黄酮类主要成分芦丁和槲皮素均具有多种药理作用^[2]。近年来, 随着医药工业的发展及保健品的开发, 槐花作为黄酮类的提取原料, 其需求量逐年递增。但因栽种局限性、生长半野生及环保限制采收等原因使槐花产量减少^[3]。市售槐花药材中除了槐花和槐米外, 还含有大量的枝梗, 在炮制过程中常常被作为非药用部位而除去^[4]。本研究采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定、比较分析同一来源的槐花药材中的槐花、槐米及其枝梗所含芦丁及槲皮素的含量, 探讨槐花同一来源不同部位有效成分的差异性, 为槐花药材的净制加

工、资源利用及质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(含 1525 工作泵及 2487 检测器); Adventurer-AR1140 型电子分析天平。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 100080-200707), 槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 100081-200907); 槐花药材购于湖南长沙高桥药材大市场, 经湖南中医药大学周日宝教授鉴定为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花、花蕾及其枝梗; 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯; 液相色谱用水为超纯水(自制, 0.45 μm 滤膜滤过)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 0.45 μm); 流动相: 水-甲醇。梯度洗脱程序: 甲醇 0 min, 20%; 10 min, 35%; 25 min, 50%; 40 min, 52%; 45 min, 20%。流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 256 nm; 进样量: 20 μL。

基金项目: 国家自然科学基金(81173558); 湖南省“十二五”重点学科中药学(1008); 湖南省“十二五”重点学科药学(1007)
通讯作者: 石继连, Tel: 0731-88458242, E-mail: hnsjl@163.com

2.2 对照品溶液的制备

精密称取 50 mg 芦丁对照品及 2.5 mg 槲皮素对照品,置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解定容至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得芦丁浓度为 5.0 mg/mL、槲皮素浓度为 0.25 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取净制后的槐花、槐米及其枝梗各 5 g,分别置于圆底烧瓶中,加入 20 倍量水浸泡 1 h,加热回流 2 h,放冷,加水补足差失的量,过滤,分别吸取续滤液 2 mL,置蒸发皿中,水浴蒸干,残渣用甲醇溶解,转移至 10 mL 容量瓶中定容,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL,分别置 2 mL 容量瓶中加甲醇定容,过 0.45 μm 微孔滤膜,分别精密吸取续滤液 20 μL,注入液相色谱仪中,按“2.1”项下色谱条件测定。以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标进行回归,得芦丁回归方程 $Y=616\ 879X-153\ 923$, $r=0.9995$,表明芦丁在 0.00~50.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系;槲皮素回归方程 $Y=144\ 794X+54\ 780$, $r=0.9998$,表明槲皮素在 0.00~2.50 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次,测定芦丁的峰面积 $RSD=1.64\%$,槲皮素的峰面积 $RSD=1.60\%$,表明精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取同一来源的槐花共 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定。结果芦丁的平均含量为 13.53%, $RSD=0.26\%$ ($n=6$);槲皮素的平均含量为 0.61%, $RSD=2.06\%$ ($n=6$)。

2.7 稳定性试验

取上述“2.3”项下制备的同一供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样,测定色谱峰面积,结果芦丁和槲皮素的 RSD 分别为 1.15%、1.27%,表明供试品溶液在 24 h 内性质较稳定。

2.8 加样回收率试验

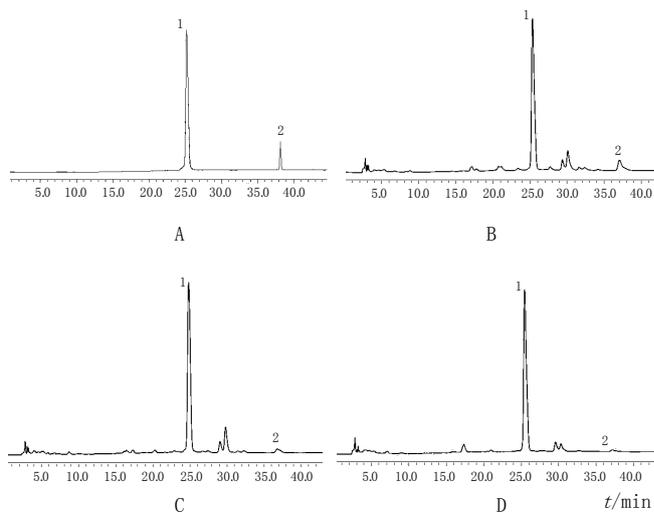
精密称取已知含量的同批槐花 9 份各 0.5 g,置圆底烧瓶中,分别按含量的 80%、100%、120%等 3 个水平各 3 份,精密加入芦丁对照品和槲皮素对照品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算回收率,芦丁和槲皮素的平均回收率分别为 99.23%、99.61%, RSD 分别为 1.64%、1.75% ($n=9$),结果见表 1。

2.9 含量测定

分别精密称取槐花药材不同部位各 3 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,各精密吸取供试品液 20 μL 进样,按“2.1”项下色谱条件测定,色谱图见图 1,计算芦丁和槲皮素的含量,结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果

成分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
芦丁	0.504 3	64.50	51.00	115.90	100.78		
	0.503 9	64.45	51.00	116.20	101.57		
	0.499 2	63.85	51.00	114.55	99.41		
	0.514 1	65.75	64.00	128.26	97.66		
	0.486 7	62.25	64.00	126.55	100.47	99.23	1.64
	0.479 3	61.30	64.00	123.80	97.66		
	0.526 1	67.29	77.00	143.19	98.57		
	0.486 4	62.21	77.00	136.81	96.88		
	0.510 7	65.32	77.00	142.30	100.08		
槲皮素	0.504 3	3.03	2.40	5.41	99.17		
	0.503 9	3.02	2.40	5.48	102.50		
	0.499 2	3.00	2.40	5.38	99.17		
	0.514 1	3.08	3.00	6.10	100.67		
	0.486 7	2.92	3.00	5.84	97.32	99.61	1.75
	0.479 3	2.88	3.00	5.91	101.00		
	0.526 1	3.16	3.60	6.72	98.89		
	0.486 4	2.92	3.60	6.42	97.22		
	0.510 7	3.06	3.60	6.68	100.56		



注: A. 对照品; B. 槐花; C. 槐米; D. 枝梗; 1. 芦丁; 2. 槲皮素

图 1 槐花药材不同部位 HPLC 图

表 2 槐花药材不同部位芦丁和槲皮素含量测定结果 (% , n=3)

部位	芦丁			槲皮素		
	含量	平均值	RSD	含量	平均值	RSD
槐花	12.69			0.59		
	12.72	12.79	1.15	0.61	0.60	1.82
	12.96			0.59		
槐米	14.45			0.48		
	14.56	14.56	0.76	0.46	0.47	2.13
	14.67			0.47		
枝梗	11.13			0.17		
	10.71	10.87	2.09	0.16	0.17	2.91
	10.77			0.17		

UPLC-ELSD 测定芪归糖痛宁颗粒中黄芪甲苷含量

吴亦菲¹, 荣娟娟², 魏良兵³, 夏伦祝³, 高家荣^{1,3}

1. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230031; 2. 芜湖市中医院, 安徽 芜湖 241000;
3. 安徽中医学院第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

摘要: 目的 建立芪归糖痛宁颗粒中黄芪甲苷的含量测定方法。方法 采用超高效液相色谱法测定芪归糖痛宁颗粒中黄芪甲苷的含量。Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm), 乙腈-水 (35 : 65) 为流动相, 流速 0.3 mL/min。结果 黄芪甲苷与其他组份分离良好, 回归方程为 $Y = 1.77X + 15.849$, $r = 0.9998$ ($n = 6$), 在 0.1 ~ 1 μg 范围内线性良好, 平均加样回收率为 99.45% (RSD = 1.53%)。结论 本方法可以很好地控制芪归糖痛宁颗粒的质量。

关键词: 芪归糖痛宁颗粒; 黄芪甲苷; 超高效液相色谱法; 含量测定

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2012.12.017

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2012)12-0045-02

Determination of Astragaloside in Qigui Tangtongning Granules by UPLC-ELSD WU Yi-fei¹, RONG Juan-juan², WEI Liang-bing³, XIA Lun-zhu³, GAO Jia-rong^{1,3} (1. College of Pharmacy, Anhui College of TCM, Hefei 230031, China; 2. Wuhu TCM Hospital, Wuhu 241000, China; 3. The First Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, State Administration of National Chinese Drugs Medicament Laboratory of Grade 3, Hefei 230031, China)

Abstract: Objective To establish a method for determination of astragaloside IV in Qigui Tangtongning granules. **Methods** The content of astragaloside IV was determined by HPLC. Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) with mobile phase of acetonitrile-water (35 : 65) was used with flow rate of 0.3 mL/min. **Results** The regression equation was $Y = 1.77X + 15.849$ and coefficient correlation was 0.9998 ($n = 6$). The linear range of astragaloside IV was 0.1–1 μg, and the average recovery rate was 99.45%, RSD = 1.53%. **Conclusion** This method can be used to control the quality of Qiguitang Tongning granules.

Key words: Qigui Tangtongning granules; astragaloside IV; UPLC; content determination

基金项目: 安徽省财政厅卫生厅 2010 年中医发展省级专项补助基金项目 (皖财社 [2010] 790 号)

通讯作者: 高家荣, Tel: 0551-2838556, E-mail: zyfygj@163.com

芪归糖痛宁颗粒为安徽中医学院第一附属医院老中医的临床经验方, 由黄芪、当归、葛根等 7 味药材组成, 具有益气活血、化瘀通痹功效, 在临床应用多年, 用于治疗糖尿病周围神经病变所出现的四肢麻木、疼痛、感觉迟钝、酸困等。为了更有效地控制该制剂质量, 本研究采用超高效液相色谱法 (UPLC) 对其

3 讨论

分别对芦丁对照品溶液和槲皮素对照品溶液在 200~400 nm 进行光谱扫描, 芦丁在 256 nm 处有最大吸收, 槲皮素在 360 nm 处有最大吸收, 对槐米提取液进行紫外检测, 在 258 nm 处有最大吸收, 综合选择测定波长为 256 nm。本试验先后选择了甲醇-1% 醋酸及甲醇-水等体系作为流动相进行预试, 发现 2 种体系均能够将芦丁和槲皮素分开, 达到理想的分离度, 理论塔板数大于 3000, 故选择对色谱柱损害更小的甲醇-水作为流动相。在本试验确定的梯度洗脱条件下, 芦丁和槲皮素的色谱峰与其他成分的色谱峰, 分离度均较高, 且槐花、槐米及枝梗色谱图相似度比较高。

试验结果表明, 槐米的不同部位有效成分含量不同, 其中芦丁的含量槐米 > 槐花 > 枝梗, 而槲皮素的含量槐花 > 槐米 > 枝梗。由试验结果可知, 枝梗中也含有较高的芦丁, 在槐花资源

减产的情况下, 医药工业以槐花为原料提取黄酮类药物时, 可以考虑不除去枝梗, 以合理利用资源。若进一步结合槐花、槐米及其枝梗的药效实验研究, 可为槐花药材不同部位的临床应用和质量控制提供科学数据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 333.
- [2] 程秀民, 生学兰, 高彦慧. RP-HPLC 测定槐米中芦丁和槲皮素含量[J]. 中成药, 2004, 26(8): 680-682.
- [3] 邢振杰. 槐米减产已成定局 后市蕴藏无限商机[J]. 中国现代中药, 2010, 12(8): 51.
- [4] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 103.

(收稿日期: 2012-05-24, 编辑: 陈静)