

备”方法制备并检测 结果 5份样品各色谱峰相对保留时间 $RSD < 0.3\%$, 峰面积比值 $RSD < 0.5\%$ 。

2.2.4 样品制备方法的影响: 取经粉碎过 20目的同一批次的黄连 2份各 0.1 g, 分别按“样品制备”方法和沸水浴盐酸 甲醇 (1: 99)回流 0.5 h, 均定容至 100 mL。两种样品提取方法获得的检测结果经相关分析, 各色谱峰相对保留时间相关系数 $r = 0.9995$, 各色谱峰峰面积比值 $r = 0.9991$ 说明两种样品提取方法结果基本一致

2.2.5 药材粒度的影响: 分别取粉碎过 20, 60, 100目的同一批次的黄连粉末, 按“样品制备”方法操作并检测。结果表明不同药材粒度的黄连数据化指纹图谱各色谱峰相对保留时间 $RSD < 0.5\%$, 各色谱峰峰面积比值 $RSD < 4.8\%$ 。

3 讨论

以上研究表明, 本实验建立的黄连的数据化

HPCE指纹图谱稳定可靠 3批黄连药材数据化指纹图谱组分保留时间和组分峰面积比值经相关分析, 相关系数均 > 0.9990 , 预示不同批次的黄连所含化学成分不仅在组成上基本相同, 而且所含化学成分的比例也基本相同。当然不同的产地、不同的生长条件可能会对某些组份的含量比例产生影响, 但是否均在某一范围内波动, 有待继续探讨。不同批次的黄连 HPCE数据化图谱基本相同的实验结果, 也表明 HPCE数据化图谱在中药黄连品种鉴定以及质量控制方面有着广阔的应用前景

References

- [1] Nie J, Tian S J, Wang G R. The development of fingerprinting research on TCM [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(12): 881.
- [2] Qiao L, Zhou H L, Wei L X. Assay the content of coptisine in Huanglian combined with Ejaio through high efficiency capillary electrophoresis [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 1999, 22(4): 25.
- [3] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol II.

RP-HPLC法测定槐米中槲皮素的含量

徐雄良¹, 张志荣¹, 柯尊洪², 田 锋^{2*}

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 成都康弘科技实业(集团)有限公司, 四川 成都 610041)

摘要:目的 建立 RP-HPLC法测定槐米中槲皮素的含量。方法 使用 Shim-pack CLC-ODS柱 (6.0 mm× 150 mm, 5 μ m), 以甲醇-0.4% 磷酸溶液 (7: 3)为流动相, 375 nm 波长, 测定槐米水解液中槲皮素的含量。结果 该方法的线性为 10.03~ 100.3 ng, $r = 0.9997$; 平均回收率为 99.06%, $RSD = 2.07\%$ ($n = 9$)。结论 该方法测定样品分离效果佳, 灵敏度高, 重现性好, 结果准确可靠。

关键词: 槐米; 槲皮素; 反相高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)06-0565-03

Quantitative analysis of quercetin in bud of *Sophora japonica* L. by RP-HPLC

XU Xiong-liang¹, ZHANG Zhi-rong¹, KE Zun-hong², TIAN Feng²

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Chengdu Kanghong

Science & Technology Industry (Group) Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Key words bud of *Sophora japonica* L.; quercetin; RP-HPLC

槐米为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾, 具有凉血止血、清肝泻火之功效, 用于多种血热出血症、肝火上亢之头痛、目赤等症。槐米主要含芦丁 (rutin) 10%~28%、桦皮醇 (betulin)、槐二醇 (sophoradiol) 以及槐花米甲、乙、丙素 (sophorin

A, B, C), 还含有槲皮素 (quercetin)、槐花皂苷 I, II, III (kaikasaponin I, II, III) 等^[1]。芦丁在酶或酸的作用下水解成槲皮素。现代药理研究认为, 槲皮素具有较好的祛痰、止咳作用, 并具有一定的平喘作用, 此外还具有降低血压、增强毛细血管抵抗力、调

* 收稿日期: 2002-10-20

基金项目: 四川省重点科技项目: 中药制剂现代化研究 (批准号: 01SG008-01)

作者简介: 徐雄良 (1969-), 男, 湖北鄂州人, 现为四川大学华西药学院 2000级硕士生, 研究方向为药物新制剂和新剂型、中药质量的标准化。Tel (028) 85503798 Fax (028) 85456898 E-mail xlx999@hotmail.com

血脂、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量等作用^[2]。

槲皮素的含量测定方法有紫外-可见分光光度法^[3]、荧光光度法^[4]、薄层扫描法^[5]以及高效液相色谱法^[6]。文献^[7]通过超声法测定了槐米炮制品以及生品中的槲皮素,而利用水解法测定槐米中槲皮素的含量尚未见报道。本实验采用 RP-HPLC 法测定了槐米水解液中槲皮素的含量,这对于利用槐米中的槲皮素作为药效成分的中药制剂,以及利用槐米来提取槲皮素具有一定的参考价值。该方法简便,灵敏度高,重现性好。

1 仪器与试药

日本岛津 LC-10Avp 高效液相色谱仪,包括 SPD-10Avp 紫外可见光检测器,CLASS-VP V5.03 色谱数据处理工作站;槲皮素对照品(供含量测定用,0081-9904,中国药品生物制品检定所);槐米药材购自四川省中药材公司,经鉴定为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS 柱(6.0 mm×150 mm, 5 μm), (日本岛津);流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(7:3);流速为 0.8 mL/min;检测波长为 375 nm;柱温为 30℃;进样量为 5 μL;理论板数按槲皮素峰计算不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取在 120℃ 减压干燥至恒重的槲皮素对照品适量,加甲醇制成 10 μg/mL 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品粉末 0.12 g,精密称定,加甲醇-25% 盐酸(4:1)混合溶液 25 mL,水浴回流 30 min,放冷,置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。其色谱图见图 1。

2.4 标准曲线及线性范围:取槲皮素对照品贮备液(1.003 mg/mL),精密量取 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别准确量取 0.2、0.5、0.8、1.0、1.2、2.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取上述溶液各 5 μL,在上述色谱条件下测定。以进样量(μg)为横坐标,3 次测得的峰面积均值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $A = 2\,558\,200C - 2\,899.8$, $r = 0.9997$ 。结果槲皮素进样量在 10.03~100.3 ng 线性关系良好。

2.5 精密度试验:精密吸取浓度分别为 8.024、10.030、12.036 μg/mL 的槲皮素对照品溶液,按上述的色谱条件测得日内精密度, RSD 分别为

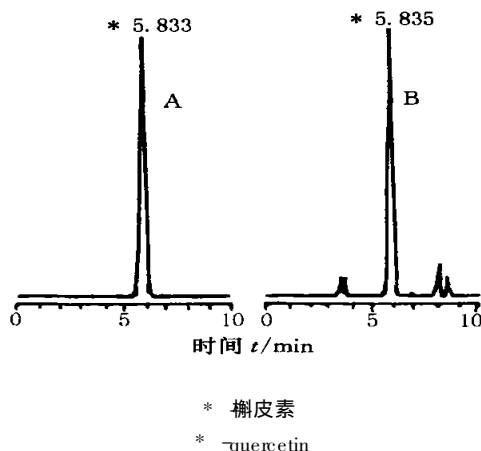


图 1 槲皮素对照品(A)和槐米供试品(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of quercetin (A) and bud of *S. japonica* (B)

1.99%, 2.67%, 1.63% ($n = 6$), 日间精密度 RSD 分别为 1.71%, 2.50%, 2.68% ($n = 6$)。由此可见,槲皮素在该色谱条件下的日内、日间精密度均较好。

2.6 稳定性试验:取样品粉末约 0.12 g,精密称定,按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,每 2 h 测定 1 次。结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定, RSD 为 1.70%。

2.7 重现性试验:取样品粉末约 0.12 g,精密称定,按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,重复测定 6 份, RSD 为 3.81%。

2.8 回收率试验:精密称取已知含量的样品粉末约 0.12 g,准确加入定量的槲皮素对照品,同法测定槲皮素的含量,计算回收率。结果平均回收率为 99.06%, RSD 为 2.07% ($n = 9$)。

2.9 样品的测定:按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,测定了 4 批样品中槲皮素的含量分别为: 12.62% ($RSD = 0.66\%$), 9.66% ($RSD = 1.07\%$), 9.13% ($RSD = 0.74\%$), 11.19% ($RSD = 0.42\%$) ($n = 3$)。

3 讨论

3.1 检测波长的选择:取槲皮素对照品适量,以甲醇为溶剂在紫外可见分光光度计(Cintra 10e 型,澳大利亚)上于 200~600 nm 扫描。结果表明槲皮素在 259、375 nm 波长处有最大吸收。在同一条件下经高效液相色谱仪测定,槲皮素在 375 nm 处的峰面积较 259 nm 波长处大,因此选择 375 nm 作为槲皮素的检测波长。

3.2 流动相的优化:文献多报道^[8]测定槲皮素的流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(5:5),流速为 1.0 mL/min。本实验通过调整甲醇与 0.4% 磷酸溶液的比例,确定二者的比例为 7:3,流速为 0.8 mL/

min,不仅样品的分离效果最好,而且灵敏度较高

3.3 供试品溶液制备方法的选择: 槐米中的槲皮素常采用酸水解芦丁的方法制得。本实验选择甲醇-25% 盐酸溶液为溶剂^[9],分别采用回流法和超声法在同一条件下水解、测定。结果表明,回流法测得的槲皮素(12.47%)较超声法(0.78%)大16倍,说明回流法中的槲皮素主要来自芦丁的水解,而超声可能仅使部分芦丁的苷键断裂,因此选择酸回流水解法。文献^[7]以乙醇为溶剂,用循环水超声提取槐米中的槲皮素为0.167%,其槲皮素可能为槐米中游离槲皮素,并非为芦丁水解

3.4 供试品溶液水解条件的选择: 盐酸水解芦丁为槲皮素,而槲皮素几乎不溶于酸性水溶液,易溶于甲醇,因此不同比例和体积的甲醇-25% 盐酸混合溶液将影响芦丁的水解和槲皮素的提取。本实验对水解时混合溶液的比例、体积以及水解时间进行了选择,结果以上述供试品溶液制备方法中的水解条件最佳。取芦丁对照品同法水解,经薄层色谱法和高效液相色谱法测定可知,芦丁已完全水解为槲皮素

3.5 4批样品中槲皮素的平均含量为10.63%,若以本品在60℃干燥6h减失的质量计,则为11.19%。由芦丁与槲皮素的相对分子质量比值可

知,4批槐米中芦丁的平均含量为22.60%,而《中华人民共和国药典》2000年版一部规定用比色法测定槐米中芦丁的含量不得少于20.0%。因此利用本方法测定槐米中槲皮素的含量简便可行。

References

- [1] Yin J, Guo L G. *Modern Research and Clinical Application of Chinese Medicinal Plants* (中药现代研究与临床应用) [M]. Vol 2. Beijing: Ancient Books of Chinese Medical Publishing House, 1995.
- [2] Hou S L. *Illustration of 800 Kinds of Chinese Medicinal Plants* (中药八百种详解) [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Publishing House, 1999.
- [3] Wang L Q, Dang G C, Gu Y. Kalman filter spectrophotometry in determination of the contents of rutin and quercetin in bud of *Sophora japonica* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(1): 60-61.
- [4] Zeng H H, Ling H G, Yu R Q. Fluorometric determination of quercetin [J]. *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 1993, 12(6): 1-3.
- [5] XU B Y. Determination of quercetin in *Abelmoschus manihot* L. Medic. and its preparation by TLC-scanning [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1996, 12(2): 31-32.
- [6] Xia Y Y, Jin W K, Chen Y T, et al. Determination of quercetin in *Tatarian Aster* (*Aster tataricus*) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(4): 207-208.
- [7] Guo R, Ding A W, Zhang Y, et al. Influence on the content of quercetin in bud of *Sophora japonica* after processed [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(7): 406-407.
- [8] Weng X M, Jin M J. Determination on content in *Giwujia* Injection by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2000, 20(8): 474-476.
- [9] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.

藏药加哇的品种考证

李 涛,王天志*

(四川大学华西药学院,四川 成都 610041)

摘要: 目的 通过对藏药加哇的本草学研究,考证其基源及藏医药用品种。方法 查阅有关历代藏医药文献,实地考察和应用现代科学技术对加哇的化学成分、含量测定方法等进行了研究。结果 表明历代藏医药本草文献中所记载的功能主治与现代藏医临床应用基本一致。结论 藏医使用加哇的正品药材为伞形科棱子芹属植物西藏棱子芹 *Pleurospermum hookeri* var. *thomsonii*。

关键词: 藏药;加哇;品种考证

中图分类号: R281.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)06-0567-04

Textual study of Tibetan medicine Jiawa (*Pleurospermum hookeri* var. *thomsonii*)

LI Tao, WANG Tian-zhi

(Department of Pharmacognosy, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Key words Tibetan medicine; Jiawa (*Pleurospermum hookeri* var. *thomsonii* C. B. Clarke); textual study

收稿日期: 2002-05-17

作者简介: 李 涛, (1971-), 男, 陕西省西安市人, 硕士, 讲师, 1994年7月毕业于西安医科大学药学院, 获理学学士学位, 1997年7月毕业于华西医科大学药学院, 获理学硕士学位, 1997年8月至今在四川大学华西药学院生药学教研室参加工作, 主要从事新型药物、制剂的开发研究和新药申报资料的科研工作。
Tel (028) 85501146 E-mail li_tao@21cn.com