

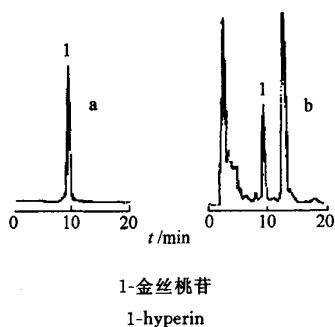


图1 金丝桃苷(a)和样品(b)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of hyperin (a) and sample (b)

3 讨论

3.1 色谱条件的选择:探索了高效液相色谱法的流动相,比较了甲醇-0.025 mol/L 磷酸(用三乙胺调 pH 为 3.0)(55 : 45);甲醇-0.025 mol/L 磷酸(55 : 45);水-异丙醇-冰醋酸(80 : 17 : 3)。结果发现,选用甲醇-0.025 mol/L 磷酸(用三乙胺调 pH 为 3.0)(55 : 45)为流动相进行分离,效果较好。经多次测试,系统具有很好的重现性和稳定性。且保留时间适中,峰形较好并可与杂质完全分离。

对金丝桃苷进行紫外扫描,选择最大吸收峰波长,结果表明紫外区有两个吸收峰。在选用 258 nm 波长下测定时,色谱峰中金丝桃苷与其他组分分离

不完全,测定波长改用 365 nm,同时选用本实验的流动相系统,金丝桃苷与其他组分色谱峰得到完全分离。

3.2 样品测定:本实验对不同产地的墓头回生药进行了考察,结果表明金丝桃苷的量与产地有关,以长安、户县产墓头回量较高(0.135%、0.134%),济南、无锡产墓头回中金丝桃苷量较低(0.092%、0.088%)。

3.3 根据本品测定的结果,高效液相色谱法可以较好地分离出墓头回的主成分峰和杂质峰,能反映样品的真实量,方法简便、准确、灵敏有利于药品质量的控制。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Yang H H. *New Chinese Materia Medica Volume* (新中药集萃) [M]. Harbin: Heilongjiang People's Publishing House, 1998.
- [3] Chen Y, Chen J M. Research Survey of *Patrinia* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(2): 101-105.
- [4] Lei H M, Zhu R, Wei L X. Chemical constituent of *Patrinia heterophylla* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1997, 32(5): 271-273.
- [5] Lei H M, Zhu R, Lü J X. The study on flavonoids in *Patrinia heterophylla* Bge. [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1995, 10(4): 154.

RP-HPLC 法测定不同产地槐米中芦丁

李培凡,张颖慧*,肖莉,晋兴华

(天津大学药物科学与技术学院,天津 300072)

芦丁又名芸香苷、紫槲皮苷,是槲皮素的 3-O-芸香糖苷,为一来源很广的黄酮类化合物。主要存在于豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的花蕾(槐花米)、果实(槐角)中。槐米主要产于天津、北京郊区、河北、山东及江苏等地区^[1,2]。芦丁是其主要活性成分,具有广泛的药理活性,开发前景广阔。芦丁的分析方法,已报道有分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法、毛细管电泳法等^[3~5]。为了综合开发利用药物植物资源,掌握不同地区槐花中芦丁的量,为药材及其制剂的质量控制提供依据。本实验采用 RP-HPLC 法对不同产地的槐米进行了质量评价,以确定该药材的主要收购地区。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,SPD-6AV 紫外检测器,LC-6A 输液泵,ANASTAR 色谱工作站,MILLP 超纯水器,超声波清洗器。

对照品芦丁(中国药品生物制品检定所提供),甲醇、乙腈为色谱纯试剂,其他试剂均为分析纯,重蒸水(自制,0.45 μm 滤膜滤过)。

槐米采自天津,北京郊区,河北省的沧州、石家庄,河南新乡、洛阳,山东德州、济南等。槐米药材经天津市药品检验所中药室吴贵华鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Spherisorb ODS C₁₈(150 mm×4.6

收稿日期:2006-03-10

作者简介:李培凡(1968—),女,北京人,在读博士研究生,研究方向为药物分析及药物代谢动力学。

*通讯作者 张颖慧 Tel:(022)27401186 E-mail:yunhuiz@eyou.com

mm, 5 μ m) 色谱柱; 柱温 45 $^{\circ}$ C。流动相: 甲醇-乙腈-冰醋酸-水 (22 : 10 : 3 : 65); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 257 nm, 灵敏度: 0.01 (AUFS)。

2.2 标准曲线的绘制: 精密称取芦丁对照品 5.0 mg, 加入 25 mL 甲醇使溶解, 加水定容至 50 mL, 得 100 μ g/mL 的芦丁对照品溶液。精密吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 使其所含芦丁的质量浓度分别为 10、20、30、40、50、60、80 μ g/mL, 分别进样 20 μ L, 按上述色谱条件测定。以峰面积积分值为纵坐标, 对照品质量浓度为横坐标进行回归, 得线性回归方程: $Y = 1\,302\,264 X + 1\,401 (r = 0.999\,9)$ 。结果表明, 在 10~80 μ g/mL 与峰面积线性关系良好。

2.3 供试品溶液制备: 精密称取于 60 $^{\circ}$ C 下干燥 3 h 的不同地区的槐米样品各 2.0 g, 经研碎后, 分别用 30 mL 甲醇浸泡 2 h, 再用超声波提取 0.5 h, 冷却、滤过, 用适量的甲醇洗残渣 2~3 次, 洗液并入滤液中, 用甲醇定容至 100 mL, 摇匀, 作为供试品溶液。进样前用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过。

2.4 精密度试验: 取同一对照品溶液 (40 μ g/mL), 重复进样 6 次, 测定其峰面积, 计算 RSD 为 1.5%。

2.5 重现性试验: 取 5 份同一批样品各 2.0 g 按“2.3”项下方法操作, 在上述色谱条件下进行测定, 计算得 RSD 为 1.63%。表明本试验的精密度及重现性均较好。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液, 自溶液配制后分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定峰面积, RSD 为 1.16%, 表明该溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 加样回收率试验: 精密称取 9 份已知量的槐米样品各 2.0 g, 每 3 份为一组, 每组分别加入芦丁对照品溶液 (100 μ g/mL) 1.4、6 mL, 按“2.3”项下方法操作, 在上述色谱条件下进行测定, 计算得平均加样回收率为 99.5%, RSD 为 1.5% ($n = 3$)。

2.8 样品的测定: 分别取各供试品溶液 20 μ L, 在上述色谱条件下进行测定, 计算芦丁的量, 结果见图 1 和表 1。

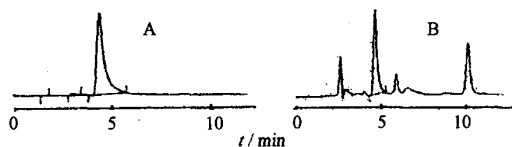


图 1 芦丁(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of rutin (A) and sample (B)

表 1 不同产地槐米中芦丁的测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination of rutin in *Flos Sophorae* from different habitats ($n = 3$)

产 地	采收时间/月	芦 丁/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)
天津	6	0.287
北京郊区	6	0.310
河北沧州	5	0.331
河北石家庄	5	0.323
河南新乡	4	0.338
河南洛阳	4	0.348
山东德州	4	0.359
山东济南	4	0.365

3 讨论

3.1 提取方法的确定: 通过对冷浸提取、加热回流提取及冷浸后用超声波^[6]提取的比较, 确定冷浸提取的同时用超声波提取效果较好。

3.2 检测波长的选择: 将芦丁对照品溶液用岛津 UV-2401PC 紫外分光光度计进行波长扫描, 芦丁的最大吸收波长为 257 nm, 故选用此波长作为检测波长。

3.3 流动相的选择: 本试验先后选择了乙腈-水及甲醇-水等体系作为流动相进行相关试验。试验表明单纯使用乙腈-水或甲醇-水虽然能够把被测组分和其他组分分离, 但拖尾严重。而二者的合用可以达到较理想的分离度, 且加入少量醋酸可以有效地防止拖尾, 故选择甲醇-乙腈-冰醋酸-水 (22 : 10 : 3 : 65) 作为流动相可得到满意的分离结果。

3.4 对不同产地槐米药材中芦丁量的比较: 由本实验结果初步看出, 不同产地槐米中芦丁的量, 以山东、河南、河北量较高, 花蕾期较花期量高。建议在今后药材及其制剂的质量标准上应该注意该项指标的考察。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Wu L J. *Natural Pharmaceutical Chemistry* (天然药物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [3] Li X G, Xiong H, Yuan Z B. Separation and determination of rutin and vitamin C in compound rutin tablets by capillary electrophoresis [J]. *Chin J Anal Lab* (分析实验室), 2001, 20(5): 41-43.
- [4] Qian Y C, Liu J D, Huang F, et al. The identification of rutin in the flower of *Sophora japonica* L. f. *pendula* Loud. Arb. Brit. by TLC and UV [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2003, 14(2): 27-29.
- [5] Yao G X, Zhang X Y, Zhu M Y, et al. Content determination of rutin in Huaihuasan (*Sophora Powder*) by HPLC [J]. *Herald Med* (医药导报), 2003, 22(2): 115-116.
- [6] Zhang H Y, Jiang Q, Jin H, et al. Extraction of rutin from *Sophora japonica* L. by microwave irradiation [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2004, 19(1): 39-41.