

不同产地瓜蒌皮药材中槲皮素及总黄酮含量测定

王祝枝¹, 王晓华^{2*}, 朱玉², 王超群²

(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230061; 2. 安徽省医学科学研究所, 合肥 230061)

[摘要] 目的: 建立瓜蒌皮药材中槲皮素和总黄酮的含量测定方法, 并测定不同产地瓜蒌皮药材中槲皮素及总黄酮的含量。方法: 分别用不同浓度的乙醇和甲醇做为槲皮素的提取溶剂, 采用浸渍提取、超声提取、回流提取3种不同提取方法提取槲皮素, 采用HPLC测定槲皮素含量; 用75%乙醇提取瓜蒌皮药材中总黄酮, 采用紫外分光光度法测定总黄酮含量。结果: 槲皮素用甲醇回流提取率较高, 江苏所产瓜蒌皮药材中槲皮素含量较高, 安徽所产瓜蒌皮药材中总黄酮含量较高。结论: 此含量测定方法重复性好, 准确可靠。不同产地瓜蒌皮药材中槲皮素及总黄酮含量差别较大。

[关键词] 高效液相色谱法; 紫外分光光度法; 瓜蒌皮; 槲皮素; 芦丁; 总黄酮

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0086-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190086

Determination of Content of Quercetin and Total Flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium* from Different Areas

WANG Zhu-zhi¹, WANG Xiao-hua^{2*}, ZHU Yu², WANG Chao-qun²

(1. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China;

2. Anhui Institute of Medical Science, Hefei 230061, China)

[Abstract] **Objective:** The purpose of the study was to establish a method for the determination of the content of quercetin and total flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium*, and to determine the content of quercetin and total flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium* from different areas. **Method:** Diverse concentrations of ethanol and methanol were chosen as the extraction solvents for quercetin while it was extracted by immersion extraction, ultrasonic extraction, and refluxing process, then the content was determined by HPLC. The content of total flavonoids was determined using ultraviolet spectrophotometry after it was extracted by ethanol (75%). **Result:** Refluxing process with methanol proved to be the optimal extraction method for quercetin. The *Pericarpium trichosanthis* from Jiangsu province showed higher content of quercetin, additionally, the content of total flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium* from Anhui province was much more than other areas. **Conclusion:** The method established to determine the content of quercetin and total flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium* in this study exhibits good reproducibility and accuracy. The contents of quercetin and total flavonoids in *Trichosanthis Pericarpium* were significantly different in different areas.

[Key words] HPLC; UV spectrophotometric method; *Trichosanthis Pericarpium*; quercetin; rutin; total flavonoids

瓜蒌皮具有清热化痰、利气宽胸之功效, 用于治疗肺热咳嗽、痰浊黄稠、胸闷胁痛等病证^[1]。我国

瓜蒌皮药材主要产自安徽、山东、河南等地^[2]。文献报道^[3,4]瓜蒌皮中含氨基酸类、多糖类、黄酮类、

[收稿日期] 20140302(007)

[第一作者] 王祝枝, 硕士生, Tel: 15255163802, E-mail: wangzhuzhi0806@163.com

[通讯作者] * 王晓华, 研究员, 硕士生导师, 从事中药质量分析和中药新药研究, Tel: 0551-62823664, E-mail: 1210wxh@sina.com

有机酸及其他化学成分,其中总黄酮与异槲皮苷是有效成分之一,但并未对其进行含量测定。文献^[5-6]也只报道了瓜蒌皮中氨基酸和总多糖及还原糖的测定。2010年版《中国药典》一部仅记载了瓜蒌皮药材的性状和鉴别项,未对瓜蒌皮规定含量测定项目。本实验建立了瓜蒌皮中槲皮素及总黄酮的含量测定方法,测定了不同产地样品,为瓜蒌皮药材的质量研究提供参考依据。

1 材料

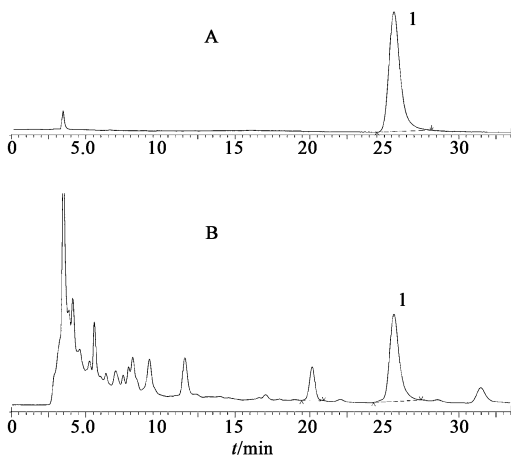
1.1 仪器与试剂 LC-10AVP型高效液相色谱仪(包括单元泵,SPD-10Avp检测器,LC-色谱柱工作站),BP210S型1/1万电子天平(德国Sartorius公司),XP56型1/100万电子天平(Mettler Toledo),UV-1750型紫外分光光度计(日本岛津公司)。甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.2 药材及对照品 瓜蒌皮药材购于安徽和义堂药房,并经安徽中医药大学俞年军教授鉴定,均为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim 的干燥成熟果皮;槲皮素(批号100081-200707)、芦丁(批号100080-200707)对照品均购自中国食品药品检定研究院,供含量测定用。

2 方法与结果

2.1 槲皮素的含量测定^[7]

2.1.1 色谱条件 Cosmosil 5 C₁₈-MS II 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.4%磷酸水溶液(50:50),检测波长360 nm,柱温30 °C,流速0.8 mL·min⁻¹,进样量10 μL。在此色谱条件下,槲皮素理论塔板数不低于50 000,分离度>1.6,见图1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 槲皮素

图1 瓜蒌皮样品 HPLC

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品适量,至5 mL量瓶中加适量甲醇溶解,并定容至

刻度,精密吸取上述溶液1 mL置100 mL量瓶中,加甲醇至刻度,制成10.376 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取不同产地瓜蒌皮粉末(过5号筛)1.0 g,至50 mL圆底烧瓶中,加甲醇溶液25 mL,称定质量,水浴加热回流提取2 h,补足减失的质量,提取液回收甲醇蒸干,残渣加甲醇-25% HCl(4:1)混合溶液20 mL,加热回流30 min,放冷,转移至25 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 线性关系试验 分别精密吸取槲皮素对照品溶液0.5,1,2,3,4,5 mL置5 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。按2.1.1项下色谱条件,进样测定,以对照品进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。槲皮素回归方程 $Y = 5.8 \times 10^6 X + 4.5 \times 10^3$ ($r = 0.9994$)。结果表明,槲皮素在10.376~10.376 ng线性关系良好。

2.1.5 稳定性试验 精密吸取同一份样品溶液,分别于0,2,4,8,12,24 h,按2.1.3项下制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,结果槲皮素RSD 0.61%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.1.6 重复性试验 精密称取同一瓜蒌皮粉末1.0 g,共5份,按2.1.3项下制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,得槲皮素RSD 1.17%。

2.1.7 精密度试验 精密吸取同一份样品溶液,连续进样6次,每次10 μL,结果槲皮素RSD 0.9%,表明精密度良好。

2.1.8 回收率试验 精密称取已知含量瓜蒌皮(安徽)粉末0.5 g,共6份,置具塞锥形瓶中,分别加入一定体积的槲皮素对照品溶液,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果见表1。

2.1.9 样品测定 精密称取不同产地瓜蒌皮粉末1.0 g,置具塞锥形瓶中,按2.1.3项下的方法制备供试品溶液,进样测定,以外标法计算槲皮素平均含量,结果见表2。

2.2 总黄酮的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品10.559 mg置50 mL量瓶中,加60%乙醇超声溶解,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,即得芦丁对照品溶液I(0.21118 g·L⁻¹)。精密称量5 mL芦丁对照品溶液I置25 mL量瓶中,用60%乙醇稀释定容,即得芦丁对照品II(0.04236 g·L⁻¹)。

2.2.2 供试品溶液的制备^[8-9] 准确称取不同产地

表 1 瓜蒌皮中槲皮素加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.502 1	0.058 7	0.113 0	95.1		
0.500 4	0.058 5	0.112 9	95.4		
0.501 8	0.058 7	0.114 2	97.2	96.8	1.6
0.501 4	0.058 6	0.115 2	99.2		
0.503 4	0.058 9	0.114 6	97.6		
0.503 9	0.059 0	0.114 1	96.5		

注:加入量均为 0.057 1 mg。

表 2 不同产地瓜蒌皮药材中槲皮素及总黄酮含量 mg·g⁻¹

No.	产地	购买地	槲皮素	总黄酮
1	安徽	合肥长江大药房	0.117	18.9
2	江苏	亳州药材市场	0.126	9.09
3	浙江	亳州药材市场	0.078	9.38
4	山东	合肥北京同仁堂连锁药房	0.012	8.79
5	河北	省立药房连锁有限公司宏康药房	0.033	8.79

瓜蒌皮药材 2.0 g 置 100 mL 圆底烧瓶中,加 12 倍量 75% 乙醇溶液,加热回流 2 h,残渣中再加 10 倍量 75% 乙醇,加热回流 2 h,过滤合并两次滤液,回收乙醇浓缩用蒸馏水定容至 25 mL,静置沉降 24 h,精密量取上清液 5 mL,用 60% 乙醇定容至 50 mL,即得样品溶液。

2.2.3 标准曲线的绘制 分别精密量取芦丁对照品溶液 II 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL, 置 10 mL 量瓶中,加 30% 乙醇至 5 mL,加入 4 mL 1% AlCl₃ 溶液,然后加 30% 乙醇定容至 10 mL,摇匀,静置 10 min,在 273 nm 处测定吸光度,以芦丁对照品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程 $Y = 3.0937X + 0.1337 (R^2 = 0.9968)$ 。由此可知,芦丁对照品溶液在 4.236 ~ 25.416 mg·L⁻¹ 的呈良好的线性关系。

2.2.4 测定方法 采用 AlCl₃ 显色法测定瓜蒌皮药材总黄酮含量^[10-11],分别精密移取对照品溶液 II 和供试品溶液各 1 mL,置 10 mL 量瓶中,以 30% 乙醇补足至 5 mL,摇匀,再加入 4 mL 1% AlCl₃ 溶液,30% 乙醇定容,摇匀放置 10 min 后,在 273 nm 处测定吸光度,即可。

2.2.5 重复性试验 精密称取同一份瓜蒌皮样品粉末 2.0 g,共 6 份,按 2.2.2 项下制备供试品溶液,于 273 nm 处测定供试品溶液吸光度,代入回归方

程,计算总黄酮含量。结果 RSD 1.38%,表明重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 精密称取同一份瓜蒌皮样品粉末 2.0 g,按 2.2.2 项下制备供试品溶液。分别在 10, 20, 30, 60, 120, 180 min 测定其吸光度,结果 RSD 1.02%,表明在 180 min 内吸光度基本保持不变。

2.2.7 回收率试验 精密称取已知含量的瓜蒌皮粉末 0.5 g,共 6 份,按对照品加入量与所取供试品含量之比为 1:1 的比例加入芦丁对照品溶液 II,按 2.2.2 项下的方法制备供试品溶液,分别测定,计算回收率。结果表明,芦丁的平均回收率为 99.3%,RSD 2.0%。

2.2.8 样品总黄酮的测定 取不同来源的瓜蒌皮药材,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液。测定吸光度,计算总黄酮平均含量(n=3),结果见表 2。

3 讨论

3.1 含量差异 不同产地的瓜蒌皮药材中槲皮素和总黄酮含量差别较大。江苏、安徽产瓜蒌皮中槲皮素和总黄酮相对含量较高。

3.2 槲皮素提取溶剂和方法的选择 考察了不同浓度的乙醇溶液(60%, 80%, 95%)和甲醇溶液,进行回流提取,结果纯甲醇为溶剂的提取效率很明显的高于乙醇,故选择甲醇为提取溶剂。比较了浸渍、超声、直接回流 3 种不同的提取方法,结果回流提取法槲皮素提取率最高。

3.3 流动相的优化 比较了甲醇-3% 磷酸水溶液(50:50)、甲醇-4% 磷酸水溶液(50:50)、甲醇-5% 磷酸水溶液(50:50),结果发现甲醇-4% 磷酸水溶液(50:50)的峰形最好,分离度高。因此,选用甲醇-4% 磷酸水溶液(50:50)作为流动相。

随着瓜蒌皮注射液已被国家食品药品监督管理局列为药品并广泛使用,其市场潜力不可估量,然而,目前关于瓜蒌皮药材的质量评价体系尚不完整,2010 年版《中国药典》仅收录了薄层鉴别项,对于含量测定项还未有明确的指标成分对其进行评价,笔者采用 HPLC 测定瓜蒌皮药材中槲皮素含量,方法学考察结果准确可靠,虽然含量较低,但为今后建立瓜蒌皮药材含量测定方法提供了参考。

[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,2010:104.

[2] 刘金娜,温春秀,刘铭,等. 瓜蒌的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中药材,2013,36(5):843.

近红外光谱法结合 PLS 快速测定木香药材中水分

雷敬卫, 樊明月, 白雁*, 郭艳利, 张强, 谢彩侠
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的: 采用近红外光谱技术结合 PLS 建立一种木香药材中水分的快速测定方法。方法: 运用近红外漫反射光谱技术采集木香的近红外漫反射光谱, 以甲苯法测定的含量为参考值, 结合偏最小二乘法(PLS)建立木香药材中水分的定量分析模型, 并用未知样品验证该模型。结果: 所建水分定量模型的校正集内部交叉验证相关系数(R^2)、校正均方差(RMSEC)和预测均方差(RMSEP)分别为0.982 9, 0.178, 0.196; 验证集 NIR 预测值与甲苯法参考值的 t 检验值为 -0.615, 双侧 $P > 0.05$, 差异无统计学意义。结论: 该方法操作简便, 测定快速, 结果准确, 可用于木香药材中水分含量的快速测定。

[关键词] 近红外光谱技术; 偏最小二乘法; 木香; 水分; 快速测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0089-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190089

Rapid Determination of Moisture in Aucklandiae Radix by Near-infrared Spectroscopy with PLS

LEI Jing-wei, FAN Ming-yue, BAI Yan*, GUO Yan-li, ZHANG Qiang, XIE Cai-xia
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** This paper mainly studied the application of near infrared spectroscopy with PLS for rapid determination of moisture in Aucklandiae Radix. **Method:** Through collecting near-infrared spectraby of Aucklandiae Radix by Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy technique, with toluene method measurements as a reference value, the quantitative model of moisture was established by partial least squares (PLS), and it was

[收稿日期] 20130823(005)

[基金项目] 河南省教育厅科学技术研究重点项目(14B360007); 河南中医学院研究生创新基金(2013YCX014)

[第一作者] 雷敬卫, 博士, 副教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 0371-65955127, E-mail: ljwei@hactcm.edu.cn

[通讯作者] * 白雁, 教授, 博士研究生导师, 从事利用现代分析手段对中药品质进行分析和评价, Tel: 0371-65962967, E-mail: 934337931@qq.com

- [3] 何祥久, 邱峰, 姚新生. 栝楼属植物化学成分[J]. 国外医药: 植物药分册, 2002, 17(1): 11.
- [4] 史国玉, 刘伟, 耿岩玲, 等. 瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(1): 73.
- [5] 孔浩, 郭庆梅, 郭新苗, 等. 柱前衍生高效液相色谱法测定瓜蒌皮中游离氨基酸含量[J]. 山东中医药大学学报, 2014, 38(3): 254.
- [6] 孙文, 巢志茂, 王淳等. 瓜蒌饮片中总糖及还原糖的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 96.
- [7] 薛珺, 李凤仪. 中草药中槲皮素测定方法的研究[J]. 江西化工, 2006, 4: 9.
- [8] 苏东林, 单杨, 李高阳. 比色法测定柑桔皮中总黄酮含量的研究[J]. 中国酿造, 2008(3): 69.
- [9] 郑媛媛, 李辰, 封士兰, 等. 油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(2): 547.
- [10] 钟方丽, 王晓林, 孙晓丽, 等. 刺玫叶中金丝桃苷和总黄酮含量的测定[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 231.
- [11] 裴咏萍, 李维林, 张涵庆. 三氯化铝比色法测定中药中总黄酮含量的方法改进[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(4): 58.

[责任编辑 顾雪竹]