

关于完善《中国药典》2010年版炒槐花质量标准的研究

景佳麟^{1,2}, 高慧敏¹, 李娆娆^{1*}, 王智民¹, 龚千锋², 张永欣¹, 顾雪竹¹
(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 南昌 330008)

[摘要] **目的:** 建立炒槐花中总黄酮、芦丁、槲皮素含量限度要求, 为完善2010年版药典中该饮片的质量标准提供实验数据。**方法:** 采用紫外-可见分光光度法测定总黄酮含量。采用HPLC测定芦丁和槲皮素的含量, 均以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 芦丁的流动相为甲醇-1%冰醋酸溶液(32:68); 槲皮素的流动相为甲醇-水-冰醋酸(44:56:0.4); 检测波长均为257 nm。**结果:** 炒槐花(花)中总黄酮、芦丁、槲皮素含量均不得低于8%, 6%, 0.35%; 炒槐花(花蕾)中总黄酮、芦丁、槲皮素含量均不得低于20%, 16%, 0.3%。**结论:** 本文方法简便易行、重复性好、结果准确, 所制定炒槐花的质量标准提高了该饮片的质控水平, 为其临床应用的安全性和有效性提供了实验数据。

[关键词] 炒槐花; 总黄酮; 芦丁; 槲皮素; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0088-05

Study on Improvement of the Quality Standard for Flos Sophorae Tostus in Chinese Pharmacopoeia (2010)

JING Jia-lin^{1,2}, GAO Hui-min¹, LI Rao-rao^{1*}, WANG Zhi-min¹,
GONG Qian-feng², ZHANG Yong-xin¹, GU Xue-zhu¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330008, China)

[Abstract] **Objective:** To improve the quality standard of Flos Sophorae Tostus in Chinese Pharmacopoeia (2010), according to the limitation of the content of total flavonoids, rutin, quercetin in the processed pieces. **Method:** The content of total flavonoids was determined by UV-Vis Spectrophotometry. The content of rutin and quercetin were determined by HPLC. Octadecylsilane bonded silica gel was used as filling material. Mobile phase for rutin consisted of methanol-1% glacial acetic acid (32:68). Mobile phase for quercetin was methanol-water-glacial acetic acid (44:56:0.4). The detection wavelengths were all at 257 nm. **Result:** The content of total flavonoids, rutin, quercetin was no lower than 8%, 6%, 0.35% in flower and no lower than 20%, 16%, 0.3% in flower buds. **Conclusion:** These methods are simple, accurate and with good reproducibility. The established quality standards improve the quality control and provide experimental datas for safety and efficacy of clinical application of Flos Sophorae Tostus.

[Key words] Flos Sophorae Tostus (flower and flower buds); total flavonoids; rutin; quercetin; quality standard

炒槐花是中医临床常用饮片^[1], 适用于脾胃虚弱的患者。原植物来源于豆科植物槐的干燥花蕾和

花^[2], 主要含芦丁、槲皮素等黄酮类成分^[3]。炒槐花质量控制标准一直是研究的重点, 2010年版《中

[收稿日期] 20111031(008)

[基金项目] 科技部重大新药创制(2009ZX09308-004); 北京自然科学基金项目(7062050, 7112097); 《中国药典》2010年版一部标准研究(YD-056)

[第一作者] 景佳麟, 硕士研究生, Tel: 010-64014411-2975, E-mail: jingjialin123@126.com

[通讯作者] *李娆娆, 副研究员, 从事中药炮制研究, Tel: 010-64014411-2975, E-mail: leeraorao@163.com

《中国药典》尚未收载其质量标准。槐花炮制品的质量标准已有报道^[4-6],仅对花进行了实验研究,且各炮制品的样品批数均只有5批。作者收集了20批实验样品,建立了这些样品中的总黄酮、芦丁和槲皮素的含量测定方法及限度要求,制订了相关质量标准。

1 仪器与试剂

Waters 717 高效液相色谱仪(2487 检测器, Waters 1515 自动进样器,美国 Waters 公司)。T6 新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),CX-250 型超声清洗器(250 W, 20 kHz, 北京医疗设备二厂)。

对照品芦丁(批号 10080-200707)、槲皮素(批号 10081-9905)均购自中国食品药品检定研究院,供含量测定用。甲醇、乙醇、冰醋酸等均为分析纯,液相用甲醇为 Fisher 色谱纯,水为娃哈哈纯净水。

槐花药材采自或购自北京、河北安国、安徽亳州、河南郑州、江西樟树、广州清平,花和花蕾各 10 批,经本所冯学锋研究员鉴定分别为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花及花蕾。

炒槐花的炮制方法:取各批样品,经过净制后得到净槐花(花朵)和净槐花(花蕾)各 10 批,分别照清炒法^[2]炒至表面深黄色,得到炒槐花的花朵和花蕾样品各 10 批,编号分别为 CHH1 ~ CHH10, CHM1 ~ CHM10。

2 总黄酮含量测定

2.1 总黄酮的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取芦丁对照品 50.00 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,置水浴上微热使溶解,放冷,加甲醇至刻度,摇匀。精密量取 10 mL,置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 标准曲线的测定 精密量取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各加水至 6.0 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,以相应的试剂为空白,在 500 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 11.5X + 0.0099$ ($r = 0.9995$),表明芦丁质量浓度在 0.008 ~ 0.048 g · L⁻¹ 呈线性关系。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称定样品粗粉约 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,超声 30 min,滤过,精密量取续滤液 10 mL,至 100 mL 量

瓶中,加水至刻度,摇匀,备用。

2.1.4 测定法 精密量取 2.1.3 项下的溶液 3 mL,置 25 mL 量瓶中,加水至 6.0 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,以相应的试剂为空白,在 500 nm 波长处测定吸光度,按标准曲线法计算芦丁的质量(μg)。

2.1.5 方法学考察

2.1.5.1 精密度试验 取 CHH1 样品 1 g,精密称定,按照 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,2.1.4 项下方法进行测定,重复测定 6 次,吸光度未发生变化,表明仪器性能良好。

2.1.5.2 稳定性试验 称取 CHH1 样品,精密称定,照 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,照 2.1.4 项下方法进行测定,分别在 0 ~ 60 min 间隔 5 min 测定一次吸光度,计算 RSD 1.79%,表明供试品溶液在 1 h 内稳定。

2.1.5.3 重复性试验 取 CHH1 样品 6 份,精密称定,按照 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,2.1.4 项下方法进行测定,RSD < 2%,表明样品的制备方法稳定。

2.1.5.4 回收率试验 采用加样回收法,取样品(芦丁含量为 11.01%) 6 份,精密称定,每份 0.5 g,精密加入芦丁对照品适量,按照 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,2.1.4 项下方法测定,计算回收率,见表 1。

表 1 炒槐花中总黄酮的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.500 2	55.07	55.00	109.27	98.54		
2	0.500 3	55.08	55.00	110.69	101.1		
3	0.500 1	55.06	55.00	111.22	102.1	101.90	1.92
4	0.500 2	55.07	55.00	111.80	103.14		
5	0.500 3	55.08	55.00	111.69	102.92		
6	0.500 2	55.07	55.00	112.13	103.75		

2.1.6 结果及限度要求 分别称取炒槐花样品约 1 g(另取同一样品,照水分测定法(附录)测定水分含量),精密称定,按照 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,测定吸光度,按干燥品计算总黄酮含量(%),结果见表 2。

表 2 炒槐花 20 批样品的含量测定结果 (n=3) %

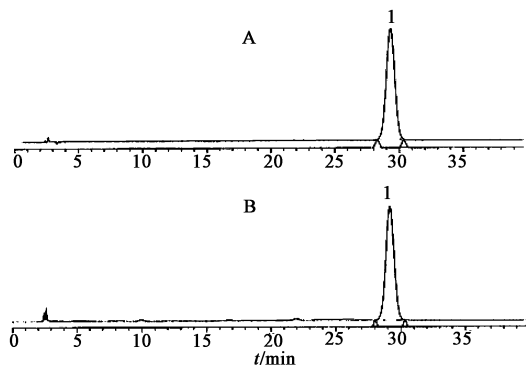
样品 编号	总黄酮 含量	芦丁 含量	槲皮素 含量	样品 编号	总黄酮 含量	芦丁 含量	槲皮素 含量
CHH1	10.59	7.86	0.42	CHM1	23.23	22.13	0.43
CHH2	9.73	5.88	0.44	CHM2	20.21	19.70	0.40
CHH3	12.19	8.51	0.37	CHM3	20.87	19.15	0.47
CHH4	10.35	6.76	0.45	CHM4	20.74	19.17	0.33
CHH5	9.27	6.43	0.44	CHM5	20.63	19.36	0.37
CHH6	10.22	6.94	0.46	CHM6	21.18	20.40	0.34
CHH7	10.49	6.78	0.48	CHM7	22.13	20.30	0.31
CHH8	14.71	10.77	0.45	CHM8	22.46	20.76	0.32
CHH9	10.29	6.67	0.45	CHM9	24.02	21.76	0.34
CHH10	10.29	6.36	0.51	CHM10	21.17	19.22	0.37
平均值	10.91	7.30	0.45	平均值	21.66	20.30	0.37

3 高效液相色谱法测定芦丁的含量

3.1 色谱条件与系统适用性实验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-1%冰醋酸溶液(32:68)为流动相,检测波长 257 nm,理论板数按芦丁色谱峰计算应不低于 6 000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液,即得。

3.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(60 目)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 芦丁

图 1 槐花 HPLC 图谱

3.4 线性范围 分别取质量浓度为 5.94, 11.88, 23.75, 47.50, 95.00, 190.00 mg·L⁻¹ 的对照品溶液,每个浓度均进样 10 μL,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算芦丁的回归方程

为 $Y = 1\ 984\ 765X - 17\ 168$ ($r = 0.999\ 9$),说明芦丁的进样量在 0.06 ~ 1.90 μg 呈线性关系。

3.5 测定方法 取样品约 1 g(另取同一样品,照水分测定法^[2]测定水分含量),精密称定,照 3.3 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,测定吸光度,按干燥品计算芦丁含量(%)。

3.6 方法学考察

3.6.1 精密度试验 取样品,精密称定,照 3.3 项下方法制备供试品溶液,照 3.6 项下方法测定,重复进样 6 次,测定峰面积,计算 RSD < 2%,表明仪器性能良好。

3.6.2 稳定性试验 取样品,精密称定,照 3.3 项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0, 1, 2, 4, 8, 16 h 进样测定,计算 RSD < 2%,表明芦丁在 16 h 内基本稳定。

3.6.3 重复性试验 取样品 6 份,精密称定,照 3.3 项下方法制备样品溶液,3.5 项下方法测定,求得 RSD < 2%。说明制备方法重复性良好。

3.6.4 加样回收率 采用加样回收法,取样品(芦丁质量分数为 20.36%) 6 份,精密称定,每份 0.1 g,精密加入芦丁对照品适量,照 3.3 项下方法制备供试品溶液,3.5 项下方法测定,计算回收率,见表 3。

表 3 炒槐花中芦丁的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.100 1	20.38	20.00	40.63	101.27	101.46	1.11
2	0.100 2	20.40	20.00	40.67	101.35		
3	0.100 2	20.40	20.00	40.46	100.29		
4	0.100 3	20.42	20.00	40.93	102.56		
5	0.100 1	20.38	20.00	40.97	102.96		
6	0.100 2	20.40	20.00	40.47	100.35		

3.7 样品测定 分别称取各样品约 1 g,精密称定,照 3.5 项下方法测定芦丁含量(%),结果见表 2。

4 高效液相色谱法测定槲皮素的含量

4.1 色谱条件与系统适用性实验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-水-冰醋酸(44:56:0.4)为流动相,检测波长 257 nm,理论板数按槲皮素色谱峰计算应不低于 6 000。

4.2 对照品溶液的制备 取槲皮素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液,即得。

4.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(60 目)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50

mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz) 30 min,放置,待其冷却至室温,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,即得。见图 2。

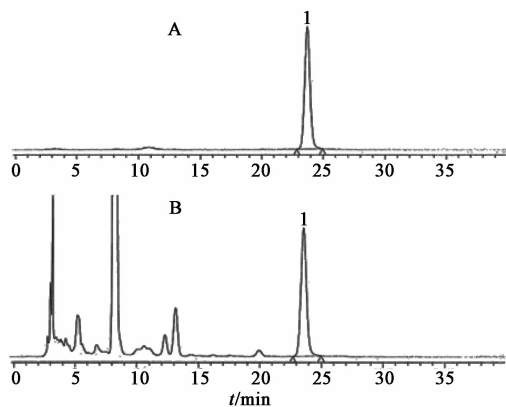


图 2 槲皮素对照品(A)及样品图谱(B)

4.4 线性范围 取质量浓度为 9.38, 18.75, 37.50, 75.00, 150.00, 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素对照品溶液,每个质量浓度均进样 10 μL ,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 3.81 \times 10^6 X - 6.91 \times 10^3$ ($r = 0.9997$),槲皮素进样量在 0.09 ~ 3.00 μg 呈线性关系。

4.5 方法学考察

4.5.1 精密度的试验 取样品,精密称定,照 4.3 项下方法制备供试品溶液,重复进样 6 次,测定峰面积,计算 RSD 0.23%,表明仪器精密度良好。

4.5.2 稳定性试验 取样品,精密称定,照 4.3 项下方法制备供试品溶液,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 16 h 进样测定,计算 RSD 0.93%,表明槲皮素在 16 h 内基本稳定。

4.5.3 重复性试验 取样品 6 份,精密称定,照 4.3 项下方法制备供试品溶液,计算 RSD 1.87%,说明样品制备方法重复性良好。

4.5.4 回收率试验 采用加样回收法,取样品(已知槲皮素质量分数 0.40%) 6 份,精密称定,每份 0.1 g,精密加入槲皮素对照品适量,照 4.3 项下方法制备供试品溶液,测定槲皮素含量,计算回收率,见表 4。

4.6 测定方法及测定结果 取各地样品适量,精密称定,照 4.3 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,测定,按照外标一点法计算槲皮素含量,测定结果见表 2。

5 结果与讨论

5.1 结果 根据表 2 中的数据,确定了炒槐花 3 项

表 4 炒槐花中槲皮素的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.100 1	0.400	0.400	0.806	101.32		
2	0.100 2	0.401	0.400	0.804	100.72		
3	0.100 2	0.401	0.400	0.801	99.95	101.81	1.34
4	0.100 3	0.401	0.400	0.812	102.64		
5	0.100 1	0.400	0.400	0.812	103.01		
6	0.100 2	0.401	0.400	0.814	103.22		

指标的限度要求。

5.1.1 总黄酮 以芦丁为对照品,按干燥品计算总黄酮含量,炒槐花的花中含量均高于 8%,花蕾中含量均高于 20%。因此规定本品按干燥品计算,炒槐花含总黄酮以芦丁计,花中含量不得少于 8.0%,花蕾中含量不得少于 20.0%。

5.1.2 芦丁 20 批炒槐花样品,10 批花中芦丁含量均高于 6%,10 批花蕾中含量均 > 16%,因此规定本品按干燥品计算,炒槐花,花中含量不得少于 6.0%,花蕾中含量不得少于 15.0%。

5.1.3 槲皮素 20 批炒槐花样品,10 批花中槲皮素含量均高于 0.35%,10 批花蕾中均高于 0.3%。因此,规定以干燥品计算,炒槐花,花中槲皮素含量不得低于 0.35%,花蕾中不得低于 0.3%。

5.2 讨论 由于 2010 年版《中国药典》在样品的制备方法中采用索氏提取的方法,作者对比了索氏提取(乙醚索氏提取至无色,残渣再用甲醇索氏提取至无色)、超声提取 I(先以乙醚超声 30 min,滤过,残渣继续用甲醇超声 30 min,滤过,取甲醇液)、超声提取 II(甲醇超声 30 min,滤过,取甲醇液)3 种方法,以芦丁计算总黄酮含量,三者含量接近,而以甲醇超声 30 min 最为简便快捷,因此作者选用甲醇超声 30 min 为样品提取的方法。

2010 年版《中国药典》中收载槐花药材中总黄酮和芦丁的含量在花和花蕾中分别不得低于 8.0%, 6.0%, 20.0%, 15.0%。作者发现在炒槐花的花蕾中芦丁含量普遍略高,因此规定炒槐花花蕾中芦丁含量不得低于 16.0%,其余含量限度要求同槐花。2010 年版《中国药典》无槐花药材中槲皮素的含量测定方法及限度要求,由于槲皮素是芦丁的主要分解产物之一,也是炮制程度的重要标志性成分,我们在本实验基础上提出了该饮片中该成分的含量限度要求。

朝鲜淫羊藿不同部位不同采收期有效成分的含量测定

于俊林^{1*}, 姜启娟², 孙仁爽¹, 吕红¹

(1. 通化师范学院制药与食品科学系, 吉林 通化 134002;
2. 通化市药品检验所, 吉林 通化 134001)

[摘要] 目的:测定朝鲜淫羊藿不同器官、不同采收期淫羊藿苷及总黄酮的含量变化规律,为合理采收、利用药材资源提供参考。方法:采用 HPLC 测定淫羊藿苷,UV 测定总黄酮。结果:叶片和地下部分中淫羊藿苷、总黄酮的含量较高,叶柄及茎含量较低,在8月份成分含量最高。结论:朝鲜淫羊藿叶片和根茎具有较大利用价值,8月分采收最好,茎和叶柄应该弃去。

[关键词] 朝鲜淫羊藿;药用部位;淫羊藿苷;总黄酮;采收期

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0092-04

Determination of the Effective Components in Different Parts and Harvest Time of *Epimedium koreanum*

YU Jun-lin^{1*}, JIANG Qi-juan², SUN Ren-shuang¹, LV Hong¹

(1. Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Teachers College, Tonghua 134002, China;
2. Tonghua Institute for Drug Control, Tonghua 134002, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the change regularity of the content of total flavones and icariin in different parts and harvest time of *Epimedium koreanum* to provide some new references for its optimized harvest time and further exploitation of its resource. **Method:** The content of flavonoids was determined by UV, and the content of icariin was determined by HPLC. **Result:** The content of flavonoids and icariin in *E. koreanum* is the highest in August, and it is the highest in the laminas and rhizomes, and the lowest in the stems and petioles. **Conclusion:** The laminas and rhizomes was of potential value in exploitation and utilization. It was suggested that August is the best time to harvest *E. koreanum*, and the stems and petioles should be discarded.

[Key words] *Epimedium koreanum*; medicinal parts; icariin; total flavones; harvest time

淫羊藿为著名中药,具补肾阳、强筋骨、祛风湿等作用,用于治疗阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛、麻

木拘挛、更年期高血压等症^[1]。在临床上主要用来治疗老年冠心病、神经衰弱、高血压、慢性支气管炎、

[收稿日期] 20110921(006)

[通讯作者] * 于俊林, 学士, 教授, 从事药用植物资源研究, Tel:0435-3209355, E-mail:yujunlin1962@163.com

[参考文献]

[1] 原思通. 医用中药饮片学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001: 372.
[2] 中国药典. 一部[S]. 2010:333,附录II, IX H.
[3] 李尧尧, 原思通, 肖永庆. 中药槐花化学成分、药理作用及炮制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(6): 77.

[4] 陈林, 何秀丽, 朱海涛, 等. 槐花炮制品质量标准研究[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1403.
[5] 吴虹霁, 兰昌云, 陈媛. 槐花的研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2006, 13(6): 1.
[6] 杨关华, 陈小荣, 郑俊华. 高效液相色谱法测定槐花药材中芦丁的含量[J]. 中国药事, 2000, 14(1): 34.

[责任编辑 蔡仲德]