

薄层色谱扫描法测定槐米中的芦丁和槲皮素

周 漩*, 宋粉云, 钟兆键

(广东药学院药物分析教研室, 广东 广州 510006)

[摘要] 目的: 测定槐米中芦丁和槲皮素的含量。方法: 以微乳液十二烷基硫酸钠-正丁醇-正己烷-水-甲酸为展开剂, 在聚酰胺薄膜上成功地分离了槐米中的芦丁和槲皮素, 并以 370nm 为测定波长, 550nm 为参比波长对之进行扫描测定。结果: 芦丁和槲皮素的线性范围分别为 0.2~ 3.0 μ g 0.1~ 1.0 μ g; 回收率分别为 98.8% 和 97.1%。结论: 建立了一种新的同时测定槐米中芦丁和槲皮素含量的薄层色谱扫描法。

[关键词] 微乳液; 薄层色谱扫描法; 槐米; 芦丁; 槲皮素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)08-0014-03

Determination of Rutin and Quercetin in Flos Sophorae with Thin Layer Chromatogram Scanner

ZHOU Xuan, SONG Fen-yun, ZHONG Zhao-jian

(Department of Pharmaceutical Analysis, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a TLCS method for determination of rutin and quercetin in Flos sophorae. **Method** A TLCS method was used. The developer was a micro-emulsion consisted of sodium dodecyl sulphate/r-C₄H₉OH/r-C₆H₁₄/H₂O/formic acid (0.27: 0.63: 0.10: 3: 0.2) and the thin layer was polyamide film. The spots of rutin and quercetin were well separated and scanned at 370nm with reference wavelength of 550nm. **Results:** The linear ranges of calibration curves were 0.2~ 3.0 μ g for rutin, 0.1~ 1.0 μ g for quercetin. The recoveries of rutin and quercetin were 98.8% and 97.1% respectively. **Conclusion:** A TLCS method has been developed for the simultaneous determination of rutin and quercetin in Flos sophorae.

[Key words] microemulsion; TLC scanning method; Flos sophorae; rutin; quercetin

槐米是豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾, 其主要有效成分为芦丁和槲皮素等黄酮类成分。可采用芦丁为对照以紫外分光光度法测定槐米中的总黄酮量^[1], 也可用薄层色谱法或高效液相色谱法测定槐米中芦丁或槲皮素含量^[2-4], 但用薄层色谱法同时测定槐米中的芦丁和槲皮素的含量则未见报道。本文用薄层色谱扫描法分离和测定了槐米中的芦丁和槲皮素。

1 材料与仪器

1.1 仪器与试剂 CS-9301 型双波长薄层扫描仪(日本岛津公司); UV-1 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); 聚酰胺薄膜片(浙江台州四青生化材料厂); 芦丁、槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所); 十二烷基硫酸钠(SDS)为上海化学试剂采购供应站日本进口分装; 其他试剂均为分析纯; 槐米样品为广州市市售, 由本院生药教研室鉴定。

1.2 对照溶液的制备 精密称取芦丁对照品 20.01mg, 加甲醇溶解并定容至 10mL, 浓度为 2.001mg/mL。精密称取槲皮素对照品 20.04mg, 加甲醇溶解并定容至 20mL, 浓度为 1.002mg/mL。

1.3 薄层色谱分离、扫描条件

1.3.1 色谱条件 用定量毛细管吸取供试液, 于聚

[收稿日期] 2005-11-29

[通讯作者] 周漩, Tel: (020) 39352136; E-mail: veego_z@hotmail.

com

酰胺薄膜上点样,以微乳液十二烷基硫酸钠-正丁醇-正己烷-水-甲酸(0.27:0.63:0.10:3:0.2)为展开剂上行展开,展程约 10cm。取出晾干,均匀喷洒 1% 三氯化铝乙醇溶液,晾干后置 365nm 紫外灯下检视,芦丁与槲皮素能与其他组分完全分离,槲皮素的 R_f 值虽然较低,但亦能与原点完全分离,可进行定量分析(见图 1)。

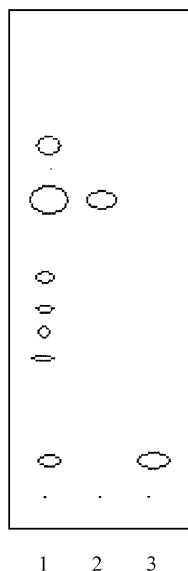


图 1 槐米的薄层色谱分离图

1 槐米 2 芦丁对照品 3 槲皮素对照品

1.3.2 薄层扫描条件 双波长反射锯齿形扫描, $\lambda_s = 370\text{nm}$, $\lambda_r = 550\text{nm}$, 散射参数 $SX = 3$, 以峰面积随进行外标二点法定量。

2 结果

2.1 展开体系的选择 微乳液的制备方法:十二烷基硫酸钠-正丁醇-正己烷按重量比 0.27:0.63:0.10 取样,并加一定比例的水搅拌溶解混匀,放置 24h。在微乳液的制备中,水量的多少决定了微乳液的结构为 O/W 或 W/O,对分离结果的影响很大。实验结果表明,当含水为 75% (O/W) 型时,槐米中黄酮类成分的分离效果最佳,而如在展开剂中加少量甲酸,能改善拖尾,实现更佳的分 离结果,最后选择含水 75% 微乳液-甲酸(100:5)的混合溶液为展开剂。

2.2 线性关系 精密吸取芦丁对照品溶液 0.1, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 μL , 依次点于同一聚酰胺薄膜片上,按选定的条件展开,扫描测定,以扫描峰面积值 Y 对点样量 X (μg) 线性回归,得回归方程: $Y = 143.2 + 1598.6X$, $r = 0.999$, 芦丁点样量在 0.2~3.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

精密吸取槲皮素对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6,

0.8, 1.0 μL , 依次点于同一聚酰胺薄膜片上,按选定的条件展开,扫描测定,以扫描峰面积值 Y 对点样量 X (μg) 线性回归,得回归方程: $Y = 123.7 + 1253.2X$, $r = 0.998$, 槲皮素点样量在 0.1~1.0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 稳定性实验 在同一聚酰胺薄膜上分别点芦丁对照品溶液与槲皮素对照品溶液各 0.5 μL , 展开后每隔 30min 扫描一次,持续 3h,两者的峰面积基本不变,稳定性良好。

2.4 精密度实验 在同一聚酰胺薄膜片上分别点芦丁对照品溶液、槲皮素对照品溶液各 6 点,点样量均为 0.5 μL ,依法展开,测定,得芦丁、槲皮素含量的 RSD 分别为 1.1% 和 1.3%。

2.5 重复性实验 精密称取干燥至恒重的槐米粉末约 200mg,置 50mL 容量瓶中,加入甲醇至刻度,浸泡 1h,再超声提取 30min,放至室温并补充超声过程中损失的甲醇到刻度,过滤,取续滤液为供试品溶液。吸取供试品溶液 2 μL 点样,随行点芦丁对照品溶液 0.6, 1.5 μL , 槲皮素对照品溶液 0.1, 0.4 μL , 依法展开,扫描,以外标两点法定量。测定同一槐米粉末 6 份。测得芦丁平均含量 22.96%, RSD 为 1.6%; 槲皮素平均含量 1.58%, RSD 为 1.8%。

2.6 加样回收实验 取槐米粉末 6 份,每份约 100mg,分别精密称定,加入芦丁约 25mg,槲皮素对照溶液 (1.002mg/mL) 1.5mL (相当于槲皮素 1.50mg),按上法进行操作,得回收率供试液,依法测得芦丁平均回收率 98.8%, RSD 为 1.7%; 槲皮素平均回收率 97.1%, RSD 为 2.0%。

表 1 回收率测定结果($n = 6$)

样品	序号	原有量 (mg)	添加量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
芦丁	1	23.05	25.12	48.40	100.9	98.8	1.7
	2	23.12	25.08	48.17	99.9		
	3	22.88	24.86	46.97	96.9		
	4	22.96	24.95	47.19	97.1		
	5	22.90	25.01	47.86	99.8		
	6	22.84	24.90	47.29	98.2		
槲皮素	1	1.59	1.50	3.07	98.7	97.1	2.0
	2	1.59	1.50	3.09	100.0		
	3	1.57	1.50	3.00	95.3		
	4	1.58	1.50	3.01	95.3		
	5	1.58	1.50	3.02	96.0		
	6	1.57	1.50	3.03	97.3		

2.7 含量测定 依法对 3 份槐米样品进行测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

样品	序号	含量(%)			平均(%)	RSD(%)
芦丁	1	22.72	22.78	23.26	22.92	1.3
	2	23.54	23.78	24.32	23.88	1.7
	3	24.48	24.10	23.72	24.10	1.6
槲皮素	1	1.56	1.56	1.62	1.58	2.2
	2	1.53	1.58	1.57	1.56	1.7
	3	1.60	1.64	1.68	1.64	2.4

3 讨论

本法分离选择性好, 分离效率高, 能很好地分离槐米中的黄酮类成分芦丁和槲皮素。由于微乳液的

增敏作用, 方法的灵敏度高, 能同时对槐米中的芦丁和槲皮素进行含量测定。本文建立了一种新的同时测定槐米中的芦丁和槲皮素的薄层色谱扫描法, 方法简便、快速、准确。

[参考文献]

- [1] 梁生旺. 中药制剂定量分析[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997. 397-399.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 247.
- [3] 王朝周, 程秀民. 薄层扫描法测定槐米中芦丁含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(4): 21-22.
- [4] 徐雄良, 张志荣, 柯尊洪, 等. RP-HPLC 法测定槐米中槲皮素的含量[J]. 中草药, 2003, 34(6): 565-567.