

发展的重要目标。NIR 技术由于快速、无损的特点,适合于大批量、快速检测中药材。本实验利用偏小二乘法建立了浙麦冬中麦冬总皂苷的定量校正模型,相关系数 0.99031,校正均方差为 0.0235,外部验证均方差为 0.0361。该模型可用于浙麦冬中麦冬总皂苷含量的快速测定,而且,本方法具有快速、准确、分析对象多样且无须预处理的独特优点,建立数学模型,可以作为中药材浙麦冬饮片生产过程即时分析和在线控制的手段。

参考文献:

- [1] 王庆慧,李锐,王金辉. 麦冬化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(11): 21-22.
- [2] 程金波,卫洪昌,沈章,等. 麦冬提取物抗犬心肌缺血的药效实验[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(8): 810.
- [3] 孙麒,巨勇,赵玉芬. 具有生物活性的甾体皂苷[J]. 中草药, 2002, 33(3): 276-280.
- [4] 范俊,张晓燕,龚婕宁,等. 麦冬正丁醇提取物对血管皮内细胞损伤的影响[J]. 中医药学刊, 2005, 24(5): 816-817.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 144.
- [6] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 近年来我国红外分析光谱技术的研究与应用进展[J]. 分析仪器, 2006, (2): 1-10.
- [7] 王丹,卜海博,李向日. 红外光谱技术在中药炮制研究中的应用与展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 269-271.
- [8] 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 78-79, 236-240.

(编辑: 宋威)

HPLC 法同时测定多穗柯提取物中 4 种黄酮苷类成分的含量

赵 亚¹, 金弘昕¹, 黄 松^{1, 2}, 赖小平^{1, 2} (1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广东 广州 510006; 2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

摘要: 目的 建立多穗柯提取物中根皮苷、3-羟基根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷的含量测定方法。方法 采用 HPLC 法, Dikma PLATISIL TM-C₁₈ 色谱柱(250×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇(A)-0.2 % 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min, 35 %A→40 %A; 10~40 min, 40 %A→80 %A), 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 柱温: 室温 25 °C; 检测波长: 260 nm。结果 根皮苷、3-羟基根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷的线性范围分别为 0.14~2.91 μ g($r=0.9998$), 0.82~16.48 μ g($r=0.9994$), 0.06~1.22 μ g($r=0.9999$), 0.05~0.98 μ g($r=0.9999$); 平均回收率分别为 100.4 %, 99.5 %, 98.2 %, 97.3 %($n=6$)。结论 该方法准确、简便, 具有良好的重复性和稳定性, 适合于多穗柯提取物中 4 种黄酮苷的含量测定。

关键词: 多穗柯; 根皮苷; 3-羟基根皮苷; 槲皮苷; 山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0088-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.024

Simultaneous Determination of Four Flavonoid Glycosides in Extracts of Folium Lithocarpi Polystachyi by HPLC

ZHAO Ya¹, JIN Hongxin¹, HUANG Song^{1, 2}, LAI Xiaoping^{1, 2} (1. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematic and Theoretic Engineering Academy of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808 Guangdong, China)

Abstract: Objective To develop a method for simultaneous determination of phloridzin, 3-hydroxyl phloridzin, quercetin, kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside in the water extract of Folium Lithocarpi Polystachyi. **Methods** HPLC method was adopted. The analysis was performed on a Dikma PLATISIL TM-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)

收稿日期: 2012-09-28

作者简介: 赵亚, 女, 博士研究生, 研究方向: 中药活性成分及质量控制研究。Email: wendy_zhaoya@yahoo.com.cn。通讯作者: 赖小平, 教授, 博导。研究方向: 中药新药研究与开发。Email: lxp88@gzhtcm.edu.cn。

基金项目: 广东省科技计划项目(2009A030100014; 2011B031700070)。

with the mobile phase consisting of methanol(A)-0.2 % phosphate acid(B)by gradient elution(0~10 min, 35%A→40%A; 10~40 min, 40%A→80%A)at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 260 nm and the column temperature was room temperature. **Results** The linear ranges were 0.14~2.91 μg($r=0.9998$)for phloridzin, 0.82~16.48 μg ($r=0.9994$)for 3-hydroxyl phloridzin, 0.06~1.22 μg ($r=0.9999$)for quercetin, and 0.05~0.98 μg ($r=0.9999$) for kaempferol-3-*O*-α-*L*-rhamnoside. The average recoveries($n=6$)of four components were 100.4 % , 99.5 % , 98.2 % and 97.3 % , respectively. **Conclusion** The developed method is rapid, accurate and with good repeatability. It is suitable for the quantitative analysis of phloridzin, 3-hydroxyl phloridzin, quercetin and kaempferol-3-*O*-α-*L*-rhamnoside in the water extract of Folium Lithocarpi Polystachyi.

Keywords: Folium Lithocarpi Polystachyi; Phloridzin; 3-hydroxyl phloridzin; Quercetin; Kaempferol-3-*O*-α-*L*-rhamnoside; HPLC

多穗柯, 又名甜茶, 为壳斗科植物多穗柯(*Lithocarpus polysachyus* Rehd.) 的干燥叶。在民间应用已有上千年的历史, 用于治疗湿热痢疾、皮肤瘙痒、痈疽恶疮^[1]。研究表明, 其具有降糖、抗过敏、抗氧化、抗菌和改善记忆等多种功能^[2-5]。多穗柯提取物为多穗柯水提取物经真空干燥而形成的粉末, 其主要成分为黄酮苷类化合物, 前期研究工作表明其对 I 型和 II 型糖尿病鼠具有一定的治疗作用^[6]。本文对多穗柯提取物中主要黄酮苷类成分进行了含量测定方法研究, 为多穗柯提取物的质量标准研究提供参考。

1 仪器与试药

LC-20AT 分析型高效液相仪, 日本岛津; SPD-M20A 二极管阵列检测器; LC-solution 数据处理系统; CP225D 电子分析天平, 广州市正一科技有限公司。

对照品根皮苷、3-羟基根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3-*O*-α-*L*-鼠李糖苷均为本实验室自制, 经核磁和质谱鉴定, 采用 HPLC 检测峰面积归一化法计算含量, 纯度均大于 98 %; 多穗柯提取物, 广州泽力医药科技有限公司; 甲醇, 色谱纯, 美国 Merk 公司, 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

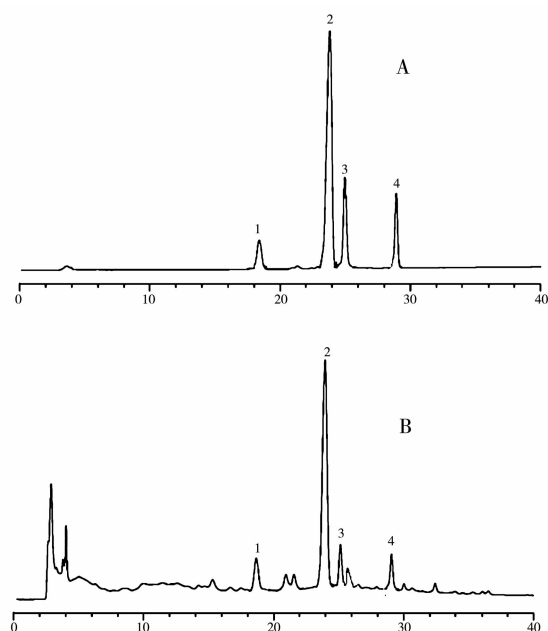
2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取真空干燥至恒重的 3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚鼠李糖苷对照品适量, 50 % 乙醇配成浓度分别为 1560, 4120, 612, 492 μg·mL⁻¹ 的单一成分对照品储备液。分别精密移取 3-羟基根皮苷对照品储备液 0.5 mL, 根皮苷对照品储备液 1.0 mL, 槲皮苷对照品储备液 0.5 mL, 山奈酚鼠李糖苷对照品储备液 0.5 mL 至 5 mL 容量瓶中, 用 50 % 乙醇定容至刻度, 摇匀, 配制成浓度分别为 156.0, 824.0, 61.2 和 49.2

μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的配制 取多穗柯提取物 0.2 g, 精密称定, 置于 25 mL 三角瓶中, 精密加入 50 % 的乙醇 25 mL, 称定重量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50 % 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 备用。进样量为 10 μL。

2.3 色谱条件 色谱柱: Dikma PLATISIL TM-C₁₈ (250×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-0.2 % 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min, 35 %A→40 %A; 10~40 min, 35 %A→80 %A); 检测波长: 260 nm; 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 室温 25 °C; 进样量为 10 μL。对照品及样品色谱图见图 1。



1. 3-羟基根皮苷; 2. 根皮苷; 3. 槲皮苷; 4. 山奈酚-3-*O*-α-*L*-鼠李糖苷

图1 混合对照品(A)和样品(B)HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A)and sample(B)

2.4 线性关系考察 分别精密吸取 2.1 项下混合对照品溶液 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL , 按上述色谱条件进样, 测定色谱峰面积。以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标, 色谱峰面积 Y 为纵坐标, 进行线性回归。3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷的标准曲线回归方程分别为:

$$Y = 5.14 \times 10^5 X - 1.19 \times 10^3, r = 0.9998;$$

$$Y = 6.95 \times 10^5 X + 2.51 \times 10^5, r = 0.9994;$$

$$Y = 2.52 \times 10^6 X - 1.80 \times 10^4, r = 0.9999;$$

$$Y = 2.21 \times 10^6 X + 1.42 \times 10^3, r = 0.9999。$$

线性范围分别为 0.16~3.12, 0.82~16.48, 0.06~1.22, 0.05~0.98 μg 。

2.5 精密度试验 分别精密吸取 2.1 项下对照品混合溶液 10 μL , 连续进样 6 次, 结果 3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷面积的 RSD($n=6$)分别为 0.65 %, 0.45 %, 0.47 %, 0.49 %。表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别于 0, 4, 8, 12, 24 h 进样测定, 结果 3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷面积的 RSD 分别为 1.7 %, 1.6 %, 2.4 %, 2.0 %。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批样品 6 份, 精密称定, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 进样 10 μL , 计算 3-羟基根皮苷, 根皮苷, 槲皮苷, 山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷含量, 结果上述 4 种成分含量平均值($n=6$)分别为 19.87, 109.23, 3.26, 2.75 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。RSD 分别为 2.3 %, 2.1 %, 2.2 %, 2.0 %。表明重复性良好。

2.8 回收率试验 称取已知含量的同一批多穗柯提取物 6 份, 约 0.1 g, 精密称定, 分别精密加入 3-羟基根皮苷储备液 1.3 mL, 根皮苷储备液 2.7 mL, 槲皮苷储备液 0.5 mL, 山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷储备液 0.6 mL, 按照 2.2 项下方法制备供试品溶液, 进样 10 μL 测定, 计算 3-羟基根皮苷(1)、根皮苷(2)、槲皮苷(3)、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷(4)的回收率, 平均回收率分别为 100.4 %, 99.5 %, 98.2 %, 97.3 %, RSD 值分别为 1.2 %, 0.9 %, 1.8 %, 1.5 %。结果见表 1。

2.9 样品含量测定 精密称取 3 批多穗柯提取物 0.2 g, 按照 2.2 项下方法制备供试品溶液, 进样 10 μL , 用外标法计算 3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷的含量。3 批样品测定结果见表 2。

表 1 加样回收率试验结果($n=6$)

Table 1 Recovery of 3-hydroxyl phloridzin, phloridzin, quercetin and kaempferol-3- O - α - L -rhamnoside

成分	样品含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	1983	2028	4050	102.0	100.4	1.2
	1991	2028	4011	99.6		
	1979	2028	4041	101.7		
	1995	2028	4035	100.6		
	1981	2028	3999	99.5		
	1991	2028	3999	99.0		
2	10978	11124	22179	100.7	99.5	0.9
	10934	11124	21980	99.3		
	10901	11124	21969	99.5		
	10967	11124	22124	100.3		
	10890	11124	21869	98.7		
	10945	11124	21902	98.5		
3	325	306	625	98.1	98.2	1.8
	327	306	631	99.2		
	328	306	635	100.2		
	324	306	628	99.4		
	325	306	622	97.2		
	327	306	619	95.3		
4	276	295	570	99.5	97.3	1.5
	274	295	558	96.4		
	275	295	557	95.5		
	276	295	566	98.2		
	276	295	565	98.1		
	274	295	558	96.2		

表 2 多穗柯提取物中 3-羟基根皮苷、根皮苷、槲皮苷、山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷的含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

Table 2 Content determination of 3-hydroxyl phloridzin, phloridzin, quercetin and kaempferol-3- O - α - L -rhamnoside

批号	3-羟基根皮苷	根皮苷	槲皮苷	山奈酚-3- O - α - L -鼠李糖苷
20110120	20.64	111.11	3.36	3.82
20110121	19.83	110.30	3.08	3.55
20110122	20.20	112.19	3.34	3.86

3 讨论

本研究对水, 乙醇, 70 %乙醇, 50 %乙醇, 甲醇, 70 %甲醇, 50 %甲醇进行了考察。研究结果表明, 50 %乙醇提取率最高, 又以 50 %乙醇溶液为提取溶剂考察了回流提取和超声提取两种方法, 结果表明, 超声提取效率较高, 在此基础上考察了提取次数和提取时间对实验结果的影响, 结果表明, 超声提取 1 次 30 min 即可将黄酮苷类成分提取完全。

采用 DAD 检测器在 200~400 nm 比较各波长下 4 个成分紫外吸收光谱差异, 3-羟基根皮苷在 285 nm

附近有最大吸收,根皮苷在 276 nm 附近有最大吸收,槲皮苷在 257 nm 处有最大吸收,山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷在 265 nm 处有最大吸收,综合考虑,本实验选择 260 nm 为检测波长,各成分均能得到较好的响应值。

试验中对甲醇-0.1 %磷酸水溶液、甲醇-0.2 %磷酸水溶液、乙腈-0.1 %磷酸水溶液、乙腈-0.2 %磷酸水溶液 4 种流动相体系进行了考察。结果表明,甲醇-0.2 %磷酸水溶液和乙腈-0.2 %磷酸水溶液流动相体系都能够获得较好的分离效果,考虑到成本问题,我们选择了甲醇-0.2 %磷酸水溶液。

本研究建立了高效液相色谱法同时测定多穗柯提取物中 4 种黄酮苷类成分的含量,该方法重复性较好,为多穗柯提取物的质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1987: 256.
- [2] 韦宝伟,李茂,李伟芳. 多穗柯总黄酮的降糖作用[J]. 内科,2008,3(4): 510-512.
- [3] 董华强,李梅,吴剑峰,等. 多穗柯根皮苷水杨酸酯抗氧化和降血糖活性研究[J]. 食品科学,2009,30(19): 279-282.
- [4] 李胜华,伍贤进,向晓军. 多穗柯有效成分的提取及抑菌效果研究[J]. 食品科技,2010,35(3): 211-214.
- [5] 曹培培,刘瑞,海春旭. 甜茶提取物对大鼠肝微粒体 LPO 模型的影响[J]. 生物物理学报,2009,25(增刊): 382.
- [6] Hou SZ, Chen SX, Huang S, et al. The hypoglycemic activity of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. leaves in the experimental hyperglycemic rats[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138(1): 142-149.

(编辑:宋威)

辐照中药光释光鉴别法的建立与评价

张立雯,林 彤,毕福钧,江英桥(广州市药品检验所,广东 广州 510160)

摘要:目的 在欧盟标准 EN 13751 方法的基础上,建立可区分辐照中药与未辐照中药的光释光法,并对所建方法进行评价。**方法** 将中药样品的测定结果采用欧盟方法与所建方法进行比较,观察系列剂量辐照后的检出情况和掺合稀释后的检出情况,研究光子计数(PSL)值与 F 值的重复性,研究经辐照处理样品贮藏后的变化情况,研究盲样检出的正确率,以对所建方法进行科学评价。**结果** 样品所含矿物质的种类和数量影响方法的检出灵敏度,敏感度高者低至 0.1 kGy 的辐照剂量即可以检出,灵敏度低者 1 kGy 以上的剂量能够检出。在未辐照样品种中混入不同比例的经过辐照处理的药粉,掺合比例低至 0.1 % 的样品也能正确识别。样品 10 次测定的 PSL 计数值重复性以及样品 3 份平行样测得 F 值的重复性满足要求。盲样测试正确率达 100 %。可见,所建方法在灵敏度、准确度、稳定性等各方面均能满足鉴别要求。**结论** 所建光释光法鉴别辐照中药具有正确率高、快速简便的特点,与欧盟方法比较,更适合中药产品,判定规则更加简洁明确,而判定结果的准确度与欧盟方法一致,甚至优于欧盟方法。

关键词:光释光法;辐照中药;鉴别;评价

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)01-0091-07

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.025

Establishment and Evaluation of Photostimulated Luminescence Methods for Detection of Irradiated Chinese Medicine

ZHANG Liwen, LIN Tong, BI Fujun, JIANG Yingqiao(Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a photostimulated luminescence(PSL)method to distinguish irradiated Chinese

收稿日期:2012-09-17

作者简介:张立雯,女,副主任药师,研究方向:药品质量标准研究。Email: mwener@126.com。

基金项目:广东省科技计划项目(2010B030700002)。