

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00990

· 论 著 ·

龙爪槐角与槐角对照药材中主要黄酮苷元成分的对比

刘景东*, 王志玲, 勾凌燕, 王 憬, 刘会敏, 王秀卿

第四军医大学白求恩军医学院仪器中心, 石家庄 050081

[摘要] **目的** 应用高效液相色谱法对龙爪槐角与槐角对照药材中主要的黄酮苷元成分进行比较, 探索龙爪槐角替代国槐槐角应用的可行性。**方法** 采摘石家庄不同地点的龙爪槐角, 以槐角对照药材为参照, 提取水解后, 高效液相色谱法绘制 HPLC 色谱图, 同时测定其中的主要黄酮苷元成分槲皮素、山柰酚和主要异黄酮苷元染料木素的含量。HPLC 测定条件: Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 0.4%磷酸-甲醇(50:50)为流动相, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 360 nm。**结果** 龙爪槐角与槐角对照药材 HPLC 色谱图峰型基本一致, 其中的槲皮素、染料木素和山柰酚平均含量分别为(0.30±0.07)%、(3.04±0.27)%和(2.74±0.30)%, 与槐角对照药材中三者的含量接近。**结论** 龙爪槐角与槐角对照药材的主要黄酮苷元成分种类相同, 含量接近, 具有代替槐角的应用前景。

[关键词] 龙爪槐角; 槐角; 槲皮素; 染料木素; 山柰酚; 高压液相色谱法

[中图分类号] R 284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)09-0990-03

Three flavonoid aglycone equivalents in fruits of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. and authentic *Fructus sophorae*: a comparative study

LIU Jing-dong*, WANG Zhi-ling, GOU Ling-yan, WANG Jing, LIU Hui-min, WANG Xiu-qing

Center of Apparatus, Bethune Military Medical College, the Forth Military Medical University, Shijiazhuang 050081, Hebei, China

[Abstract] **Objective** To compare the chromatographic profiles and contents of three flavonoid aglycone equivalents (quercetin, genistein, and kaempferol) in the fruits of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. and the authentic *Fructus sophorae*, so as to provide a theoretical basis for using the fruit of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. as a substitute for *Fructus sophorae*. **Methods** The fruits of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. were collected from different areas of Shijiazhuang in Winter. The flavonoids in the fruits were extracted by successive extraction with methanol. The acidic-hydrolyzed extracts were separated on a Diamonsil C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm). 0.4% phosphoric acid-methanol (50:50, V/V) was used as mobile phase. The flow rate of mobile phase was 1.0 ml/min and the effluents were monitored at 360 nm. **Results** The chromatographic profiles of the two fruit extracts were consistent basically. The contents of quercetin, genistein, and kaempferol in the fruits of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. were (0.30±0.07)%, (3.04±0.27)%, and (2.74±0.30)%, respectively, which were similar to those in the authentic *Fructus sophorae*. **Conclusion** It is found that the contents of major flavonoid aglycones in the fruit of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. are similar to those in the authentic *Fructus sophorae*, making it a potential substitute for the *Fructus sophorae*.

[Key words] *Sophora japonica* var. *pendula* Loud.; *Fructus sophorae*; quercetin; genistein; kaempferol; high pressure liquid chromatography

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(9):990-992]

槐角(*Fructus sophorae*)为豆科植物槐(*Sophora japonica* L.)的干燥成熟果实, 具有凉血止血、清肝明目的功效, 是一种常用中药材。我国的槐角资源主要是种植于城乡道路两旁的国槐。随着城市建设的加

快, 种植在道路两旁的槐树被大量砍伐, 加之槐树生长缓慢, 木材经济价值低, 种植数量愈来愈少, 因此槐资源日益枯竭。同时, 由于槐角中含有多种有效成分^[1], 市场需求日渐增加, 供求矛盾加大。龙爪槐

[收稿日期] 2010-05-19 **[接受日期]** 2010-07-07

[基金项目] 全军医学科研“十一五”计划面上项目(06MB335)。Supported by the Fund of Medical Science Research of “11th Five-year Plan” of PLA(06MB335).

[作者简介] 刘景东, 高级实验师, 硕士生导师。

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 0311-87977097, E-mail: sandongliujingdong@163.com

(*Sophora japonica* var. *pendula* Loud.) 是国槐的变种^[2], 与槐的亲缘关系十分相近, 因其树形美观、观赏性强, 近年来城区绿地、街道公园、校舍庭院及道路两旁大量种植, 资源十分丰富。历版《中华人民共和国药典》仅收载国槐的槐角^[3], 有关龙爪槐角化学成分与应用研究的报道很少, 龙爪槐角能否替代国槐槐角应用尚未见文献资料。本研究应用 HPLC 法, 对龙爪槐角和槐角对照药材的色谱图和其中槲皮素(quer-cetin)、染料木素(genistein)和山柰酚(kaempferol)等 3 种苷元的含量进行测定、比较, 为龙爪槐角替代槐角使用提供实验依据。

1 仪器、试剂与药品

高效液相色谱仪(美国 Waters 1525 系统, 高压泵、2487 双波长紫外检测器和 Breeze 色谱数据系统)。槲皮素、染料木素、山柰酚和槐角对照药材均购于中国药品生物制品检定所(批号分别为 100081-200406、111704-200501、110861-200606、121214-0101); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。高纯水由 Millipore 纯水器制备。龙爪槐角采自石家庄市(选 5 处采摘地, 每处选 10 棵树, 每树采摘 1 枝, 去除枝叶后, 槐角混匀, 自来水洗净, 80℃ 烘干备用), 2008 年 12 月 15 日采摘, 经本院药学教研室张书峰博士鉴定均为豆科植物国槐变种龙爪槐的果实。

2 方法和结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥恒重的槲皮素、染料木素和山柰酚对照品各 10 mg, 置于 50 ml 容量瓶中, 加甲醇 40 ml, 超声处理 5 min, 用甲醇稀释至刻度, 作为标准贮备液。精密吸取上述溶液适量, 配制成槲皮素、染料木素和山柰酚浓度分别为 2 μg/ml 的溶液, 0.45 μm 滤膜过滤, 作为对照品溶液。

2.1.2 供试样品溶液的制备 精密称取干燥龙爪槐角及槐角对照药材粉末各 0.5 g, 置索氏提取器中, 加甲醇 90 ml, 连续提取 10 h, 提取液蒸干, 残渣加甲醇-25% 盐酸(4:1) 混合液 50 ml, 水浴回流 30 min, 蒸干液体后, 用甲醇定容至 100 ml, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 作为供试样品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性实验 色谱柱: Diamon-sil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.4% 磷酸-甲醇(50:50); 流速 1.0 ml/min; 检测波长 360 nm; 进样量 10 μl; 灵敏度 0.000 1 AUFS; 柱温 20℃。按出峰顺序, 槲皮素、染料木素和山柰酚的保留时间

分别为 11.452、15.019、21.618 min。根据对照品溶液的色谱图中 3 个峰的相关参数计算系统适用性, 其理论塔板数分别为 23 315、29 462、46 734, 分离度分别为 10.98、17.60, 拖尾因子分别为 0.987、1.013、1.006。

2.3 线性关系的考察 精密量取对照品贮备液, 用甲醇稀释成槲皮素、染料木素、山柰酚浓度分别为 0.08、0.1、0.125、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 μg/ml 的溶液, 按“2.2”项下色谱条件, 进样量 10 μl 进行色谱分析, 每个浓度重复 3 次, 记录色谱图。以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归分析, 槲皮素浓度在 0.08~1.0 μg/ml 的范围线性良好, 回归方程为: $A=23\ 030.71C-1.17$, $r=0.999\ 0$; 染料木素浓度在 0.5~4.0 μg/ml 的范围线性良好, 回归方程为: $A=4\ 757.5C-94.6$, $r=0.999\ 5$; 山柰酚在 0.1~1.0 μg/ml 的范围线性良好, 回归方程为: $A=30\ 441.77C-141.7$, $r=0.999\ 7$ 。

2.4 精密度实验 取对照品溶液 10 μl, 按“2.2”项下色谱条件重复进样 5 次, 记录色谱峰面积, 计算槲皮素、染料木素、山柰酚的 RSD 分别为 0.56%、0.49% 和 0.71%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重复性实验 分别精密称取同一批次龙爪槐角样品粉末 0.5 g, 共 6 份, 按“2.1.2”项步骤制备供试样品溶液, 按“2.2”项下条件进样 10 μl, 测定峰面积。计算得龙爪槐角槲皮素、染料木素和山柰酚的 RSD 分别为 1.48%、1.75%、1.69% ($n=6$)。

2.6 稳定性实验 取同一份龙爪槐角供试样品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 考察其稳定性。按“2.2”项下条件进样 10 μl, 记录峰面积。计算龙爪槐角槲皮素、染料木素和山柰酚峰面积的 RSD 分别为 0.85%、1.02%、1.13%, 表示供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 加样回收率实验 精密称取已知含量同一批次龙爪槐角粉末 0.5 g, 共 6 份, 分别准确加入不同质量的槲皮素、染料木素和山柰酚对照品, 按“2.1.2”项步骤制备供试样品溶液, 按“2.2”项下条件进样 10 μl, 测定峰面积。根据峰面积及加入对照品的量计算加样回收率, 结果龙爪槐角槲皮素、染料木素和山柰酚平均回收率分别为 97.1%、96.1% 和 96.8%, RSD 分别为 1.45%、1.78% 和 1.79%。

2.8 龙爪槐角与槐角对照药材中槲皮素、染料木素和山柰酚含量的测定 精密量取供试品溶液适量, 用甲醇稀释 200 倍, 使其峰面积在标准曲线的线性范围内, 按“2.2”项下条件进样 10 μl, 进行色谱分析, 图谱见图 1。将峰面积代入回归方程分别计算槲皮素、染料木素和山柰酚的含量, 结果见表 1。

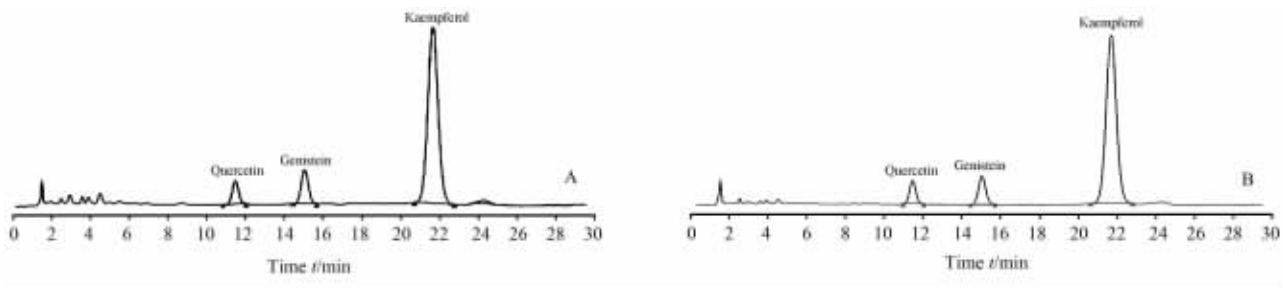


图 1 槐角对照药材(A)和龙爪槐角(B)提取物水解后的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of acidic-hydrolyzed extract of authentic *Fructus sophorae* (A) and fruits of *Sophora japonica* var. *pendula* Loud. (B)

表 1 龙爪槐角与槐角对照药材中槲皮素、染料木素和山奈酚的含量

Tab 1 Contents of quercetin, genistein, and kaempferol in fruits of two species of plants

(ω, %)

Sample	Source	Quercetin	Genistein	Kaempferol
Authentic <i>Fructus sophorae</i>	Commercial standard	0.35	3.37	2.45
<i>Sophora japonica</i> var. <i>pendula</i> Loud.				
Fruit sample-1	Zhongshan Xi Road, Shijiazhuang	0.40	3.21	3.17
Fruit sample-2	Xixing Park, Shijiazhuang	0.24	2.98	2.81
Fruit sample-3	Yuxi Park, Shijiazhuang	0.35	3.25	2.52
Fruit sample-4	Bachang Road, Shijiazhuang	0.30	3.02	2.78
Fruit sample-5	Yuhua Road, Shijiazhuang	0.22	2.67	2.41
Average of fruit samples($\bar{x} \pm s$)		0.30 ± 0.07	3.04 ± 0.27	2.74 ± 0.30

3 讨论

从本实验结果可见,龙爪槐角与槐角对照药材 HPLC 色谱图峰型基本一致,提示其所含的成分种类基本相同。测定结果还表明,龙爪槐角中主要的黄酮苷元成分槲皮素、染料木素和山奈酚的平均含量与槐角对照药材无明显差异,为龙爪槐角替代槐角应用提供了实验依据。

2005 版《中华人民共和国药典》收录了槐角中槐角苷含量的测定方法^[3],用来控制槐角的质量。实际上槐角皮中的异黄酮成分除槐角苷外还有十余种,主要为染料木素苷类异黄酮^[4-6]。本实验测定染料木素的含量,是游离染料木素和多种染料木素苷水解后染料木素的总量,比单独测定槐角苷更能真实地反映龙爪槐角中染料木素类异黄酮的含量。

龙爪槐角及槐角中的另一黄酮成分山奈酚及其苷,在含量测定和生物活性研究等方面目前还没有引起人们的关注。文献^[7-8]研究发现,槐角皮中有 5 种山奈酚苷,其种类多于槲皮素苷。但尚未检索到测定槐角中山奈酚及其苷含量的相关文献。目前,国内还没有所有山奈酚苷的标准品,因此,准确测定其中各种山奈酚苷的含量比较困难。本实验测定槐角中的山奈酚是游离山奈酚与山奈酚苷水解后山

奈酚的总量,能反映样品中山奈酚的总量。本实验发现山奈酚是槐角中含量最多的黄酮苷元,其量远高于槲皮素,与染料木素含量接近,这一结果为今后槐角中山奈酚的开发利用提供了依据。

[参考文献]

- [1] 陈发奎,刘晓秋. 中药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,2008;2191-2192.
- [2] 徐飞,郭卫华,王玉芳,王炜,杜宁,王仁卿. 济南市校园 6 个绿化树种光合荧光特征比较初探[J]. 山东大学学报:理学版,2007,42;86-94.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:化学工业出版社,2005;247.
- [4] 唐于平,王景华,李延芳,楼凤昌,马雯. 槐果皮中的黄酮醇及其苷类成分[J]. 植物资源与环境学报,2001,10;59-60.
- [5] 唐于平,楼凤昌,马雯,王景华,李延芳. 槐果皮中的异黄酮甙类成分[J]. 中国药科大学学报,2001,32;187-189.
- [6] 王景华,李明慧,王亚琳,楼凤昌. 槐种子化学成分研究(II) [J]. 中草药,2002,33;586-588.
- [7] Wang J, Lou F, Wang Y, Tang Y. A flavonol tetraglycoside from *Sophora japonica* seeds[J]. Phytochemistry, 2003, 63: 463-465.
- [8] Qi Y, Sun A, Liu R, Meng Z, Xie H. Isolation and purification of flavonoid and isoflavonoid compounds from the pericarp of *Sophora japonica* L. by adsorption chromatography on 12% cross-linked agarose gel media[J]. J Chromatogr A, 2007, 1140;219-224.

[本文编辑] 尹 茶