

不同产地槐米的质量综合评价研究

谭 均^{1,2,3,4}, 李隆云^{1,2,3,4*}, 王计瑞^{1,2,3,4}, 丁 刚^{1,2,3,4}, 徐 进^{1,2,3,4}¹重庆市中药研究院; ²重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心; ³重庆市中药资源学重点实验室; ⁴中国中医科学院中药资源中心重庆分中心, 重庆 400065

摘要: 为了进一步完善槐米的质量评价方法, 并对不同产地槐米进行质量评价, 本研究按照 2015 版《中华人民共和国药典》方法测定水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物和总黄酮; 采用 HPLC 法测定槐米中芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素 4 种成分的含量, 并通过 SPSS 20.0 软件进行聚类分析和主成分分析。54 批槐米样品的水分、总灰分和酸不溶性灰分均符合药典标准; 南方产槐米的浸出物及黄酮类成分含量均普遍高于北方产槐米。聚类分析和主成分分析将 54 批槐米聚为 3 类, 分类结果与地域有较大关系。本研究较全面地评价了全国 54 个产地槐米的质量, 为槐米的产品开发提供了实验依据。

关键词: 槐米; 质量评价; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R932; Q946

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.12.021

Study on Quality Evaluation of *Flos Sophorae Immaturus*TAN Jun^{1,2,3,4}, LI Long-yun^{1,2,3,4*}, WANG Ji-rui^{1,2,3,4}, DING Gang^{1,2,3,4}, XU Jin^{1,2,3,4}¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica;²Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica;³Chongqing key Laboratory of Chinese Medicine Resources;⁴Chongqing Sub-center of National Resources Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Chongqing 400065, China

Abstract: The objectives of this study were to improve the method of quality evaluation on *Flos Sophorae Immaturus* (FSI) and to evaluate qualities of FSI from different producing areas. The contents of moisture, total ash, acid-insoluble ash, extract and total flavonoids in FSI were determined using methods in the Pharmacopoeia (published in 2015). HPLC was used to determine contents of rutin, narcissin, quercetin and isorhamnetin. Then, cluster analysis and principal component analysis were conducted by software of SPSS 20.0. The contents of moisture, total ash, and acid-insoluble ash in 54 batches of FSI were all in accord with demands of Pharmacopoeia. The contents of extract and flavonoids of FSI collected from Southern region were generally higher than those from Northern region. Fifty-four batches of FSI were divided into 3 clusters according to cluster analysis and principal component analysis, and there was a great relationship between the classification results and the region. The qualities of FSI from 54 producing areas in China were evaluated in this study, which could provide experimental basis for the product development of FSI.

Key words: *Flos Sophorae Immaturus*; quality evaluation; cluster analysis; principal component analysis

槐米为豆科植物国槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾, 具有清热、凉血、止血的功效^[1]。现代药理研究表明槐米具有保护心脑血管^[2,3]、改善糖尿病^[4]、抗菌^[5]、抗氧化^[6]和抑制黑色素生成^[7]等作

用。槐米中含有大量的黄酮及其苷类成分, 如芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、染料木素等^[8,9]。槐米的产地在中国分布范围较广, 由于各地气候、地形、土壤条件等不同, 所产槐米质量也不均一。李振志^[10]等研究发现不同产地槐米中芦丁的含量有显著性差异, 其中以广西桂林产含量最高。国槐的花期为 6~8 月, 在不同时期, 槐花中黄酮类成分的含量也有较大差异^[11]。为了综合开发槐米产品及保障用药安全, 有必要对各产地槐米药材的质量进行全面的评价。Liu^[8]等采用 UPLC-MS/MS

收稿日期: 2018-04-11 接受日期: 2018-09-14

基金项目: 重庆市林业重点科技攻关项目(2016-14); 国家中药材产业技术体系(CARS-21); 重庆市中药材产业技术体系(2017-[5]号); 重庆市重点产业共性关键技术创新专项(cstc2016zdcy-ztxk10003); 重庆市科技研发基地项目(cstc2014ptyjd10001)

* 通信作者 Tel: 86-23-89029118; E-mail: lilongyun8@163.com

法同时测定了槐米中 5 种黄酮类成分,但是检测成本较高,不易推广。本实验建立了同时测定槐米中芦丁、水仙苷、槲皮素和异鼠李素 4 种成分的 HPLC 方法,对不同产地槐米中 4 种成分含量进行测定,并通过主成分分析法进行评价;参照 2015 版《中华人民共和国药典》^[1] 对不同产地槐米药材进行水分和灰分的检查以及浸出物和总黄酮的含量测定并采用聚类分析法进行归类。通过以上研究,更加全面地评价各地槐米的质量,为槐米药材的临床使用和产品开发提供依据。

1 仪器与试剂

仪器:Agilent 1260 高效液相色谱仪(Agilent 公司,美国;DAD 检测器),UV 2600 紫外分光光度计(岛津公司,日本),Milli(Q Integral 5 型纯水仪(Millipore 公司,美国),BSA 124(S 型电子天平(Sartorius,德国),KQ(250 DB 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,中国),8(10 型马弗炉(沈阳

节能电炉厂,中国),XMTB 数显式电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器械有限公司,中国),G2X(9240 MBE 电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂,中国)。

对照品:芦丁对照品(批号: MUST(16070511, 纯度: $\geq 99\%$)、槲皮素对照品(批号: MUST(16072203, 纯度: $\geq 98\%$)、异鼠李素对照品(批号: MUST(16092001, 纯度: $\geq 98\%$)购自成都曼斯特生物科技有限公司;水仙苷对照品(批号: TAQT(LR-LA, 纯度: $\geq 93.1\%$)购自中国食品药品检定研究院。

试剂:乙腈(TEDIA 公司,美国;色谱纯)、甲醇(TEDIA 公司,美国;色谱纯)、醋酸(TEDIA 公司,美国;色谱纯),其它试剂均为分析纯。

样品产地:在全国范围内共收集样品 54 批,详细信息见表 1。样品经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为豆科植物国槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾。

表 1 槐米样品来源

Table 1 Origin of *Flos Sophorae Immaturus*

编号 No.	产地 Habitat	编号 No.	产地 Habitat
BF-1	陕西省 渭南市 大荔县 赵渡镇 仁兴村	NF-3	湖南省 永州市 道县 四马桥镇
BF-2	陕西省 西安市	NF-4	湖南省 永州市 道县 寿雁镇 鲤鱼坝村
BF-3	陕西省(亳州药市购 1)	NF-5	湖南省 永州市 东安县 横塘镇 三直村
BF-4	陕西省(亳州药市购 2)	NF-6	贵州省 贵阳市 花溪区
BF-5	甘肃省 张掖市 甘州区	NF-7	云南省 普洱市 江城 县 国庆乡 肆银村
BF-6	甘肃省 礼县 红河镇	NF-8	广西省 全州县 庙头镇 宜湘河村
BF-7	山西省 临汾市 霍州市 退沙街道	NF-9	广西省 全州县 枫塘镇 土桥村
BF-8	山西省 稷山县 清河镇 南松鹤村	NF-10	广西省 全州县 黄沙河镇 慕古村
BF-9	山西省 稷山县 稷峰镇 桐下村	NF-11	广西省 全州县 永岁乡
BF-10	山西省 稷山县 翟店镇 古路岔村	NF-12	广西省 全州县 永胜乡
BF-11	山西省(购于安国药市)	NF-13	广西省 全州县 大宝乡
BF-12	内蒙古	NF-14	广西省 全州县 咸水镇
BF-13	河北省 安国市 伍仁桥镇 双流昌村	NF-15	广西省 兴安 县 湘漓镇 西街头村
BF-14	河北省 安国市 祁州镇	NF-16	重庆市 巫山县 骡坪镇 茶园村
BF-15	河北省 保定市	NF-17	重庆市 巫山县 福田镇 金凤村
BF-16	北京市	NF-18	重庆市 巫山县 双龙镇 万家村
BF-17	辽宁省 大连市	NF-19	重庆市 巫山县 双龙镇 洞桥村 荒家湾
BF-18	山东省 临清市 刘垓子镇	NF-20	重庆市 万州区 长坪乡 长坪社区 6 组
BF-19	河南省 许昌市 襄城县 颍阳镇 官庄村	NF-21	重庆市 万州区 余家乡 刚合村
BF-20	河南省 南阳市 新野县 歪子镇	NF-22	重庆市 万州区 太安镇 初级中学后

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	产地 Habitat	编号 No.	产地 Habitat
BF-21	安徽省 亳州市(药市购)	NF-23	重庆市 万州区 甘宁镇 甘宁乡
BF-22	安徽省 亳州市 谯城区 十九里镇	NF-24	重庆市 万州区 柱山乡 青高村
BF-23	江苏省 邳州市 八义集镇石桥村	NF-25	重庆市 大足区 珠溪镇 宝珠村
BF-24	江苏省 邳州市 占城镇	NF-26	重庆市 大足区 宝顶镇 鸡公岭
BF-25	江苏省 宿迁市	NF-27	重庆市 涪陵区 太和乡 白果村
NF-1	湖北省 武汉市	NF-28	重庆市 北碚区 西山坪村
NF-2	湖南省 永州市 蔡市镇 三龙塘村	NF-29	四川省 乐山市 沙湾区 碧山乡

2 实验方法

2.1 水分、灰分、浸出物及总黄酮的检测

样品处理及检测方法按照《中华人民共和国药典》^[1]中相关方法进行检测。

2.2 4种黄酮类成分含量测定

2.2.1 色谱分析条件

色谱柱: Inertsil[®] ODS-3 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈(A) - 1% 醋酸水溶液(B), 梯度洗脱, 0~5 min, 5% A; 5~10 min, 5% → 20% A; 10~20 min, 20% A; 20~30 min, 20% → 32% A; 30~45 min, 32% → 35% A; 45~50 min, 35% → 5% A; 50~55 min, 5% A。流速 1.0 mL/min, 检测波长 257 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

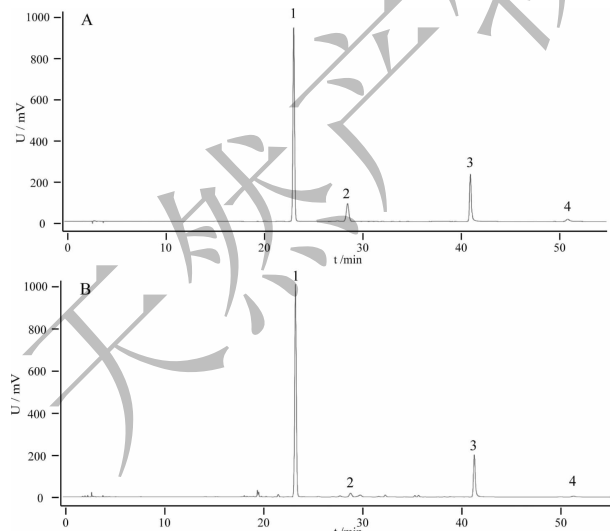


图 1 对照品(A)和槐米供试品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and *Flos Sophorae Immaturus* sample (B)

注: 1. 芦丁, 2. 水仙苷, 3. 槲皮素, 4. 异鼠李素。

Note: 1. rutin, 2. narcissin, 3. quercetin, 4. isorhamnetin.

2.2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取对照品水仙苷 6.04 mg、槲皮素 10.18 mg、异鼠李素 3.00 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密移取上述水仙苷溶液 2 mL、槲皮素溶液 2 mL、异鼠李素溶液 0.5 mL 与芦丁 9.04 mg 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得芦丁浓度为 904.0 μg/mL、水仙苷浓度为 120.8 μg/mL、槲皮素浓度为 203.6 μg/mL、异鼠李素浓度为 15.0 μg/mL 的混合对照品溶液。再稀释得到梯度浓度的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备

精密称取干燥槐米样品粉末(过 60 目筛) 0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇 50 mL, 称定质量。于 25 °C 超声处理(功率 400 W, 频率 40 kHz) 30 min, 冷却, 用甲醇补足失重, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液即得。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系考察

将梯度浓度的混合对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件进样检测。以各对照品峰面积(Y)为纵坐标, 浓度(X, μg/mL)为横坐标, 做标准曲线, 芦丁的线性方程为 $Y = 18.872X + 34.875$, $r = 0.9999$; 水仙苷的线性方程为 $Y = 9.763X - 1.661$, $r = 0.9998$; 槲皮素的线性方程为 $Y = 17.583X - 14.405$, $r = 0.9999$; 异鼠李素的线性方程为 $Y = 16.203X - 3.285$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 芦丁在 56.5 ~ 904.0 μg/mL、水仙苷在 7.6 ~ 120.8 μg/mL、槲皮素在 1.6 ~ 203.6 μg/mL、异鼠李素在 0.9 ~ 15.0 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.4.2 检测限与定量限

配制一系列质量浓度由高到低的对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样检测。以信噪比为 3 时考察检测限、信噪比为 10 时考察定量限, 结果表

明芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素的检测限分别为 159、329、223、234 ng/mL, 定量限分别为 556、940、556、938 ng/mL。

2.2.4.3 精密度的试验

取同一混合对照品溶液按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录各成分的峰面积。结果芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素峰面积 RSD 分别为 1.26%、2.18%、1.27%、2.14%、1.58%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4.4 重复性试验

取同一来源槐米样品, 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样, 记录各成分的峰面积。结果芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素峰面积 RSD 分别为 1.87%、1.90%、1.44%、1.34%, 表明本方法重现性良好。

2.2.4.5 稳定性试验

取同一供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样, 记录各成分的峰面积。结果芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素峰面积 RSD 分别为 1.11%、1.24%、1.99%、1.32%, 表明供试品溶液于 24 h 内测定结果稳定。

2.2.4.6 回收率试验

精密称取已知含量的同一来源槐米样品 6 份, 每份 0.05 g, 分别精密添加与样品中含量相当的芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素对照品, 按“2.2.3”项

下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样检测, 计算得到芦丁的平均加样回收率为 100.31%, RSD 为 1.73%; 水仙苷的平均加样回收率为 103.77%, RSD 为 1.85%; 槲皮素的平均加样回收率为 100.63%, RSD 为 2.75%; 异鼠李素的平均加样回收率为 101.93%; RSD 为 2.55%。结果表明本方法的回收率良好。

3 结果与分析

3.1 水分、灰分、浸出物及总黄酮的检测

槐米样品中水分、灰分、浸出物及总黄酮的检测结果见表 2。结果显示 54 批槐米样品的水分含量在 4.83% ~ 10.81% 之间, 均低于 11.00%, 符合药典规定; 总灰分含量在 3.42% ~ 8.93% 之间, 均低于 9.00%, 酸不溶性灰分含量在 0.73% ~ 2.93% 之间, 均低于 3.00%, 符合药典规定。南方产样品 30% 甲醇浸出物含量在 43.69% ~ 55.11% 之间, 均符合药典规定; 北方产样品 30% 甲醇浸出物含量在 32.38% ~ 52.56% 之间, 差异较大, 其中 BF-4、BF-6、BF-9、BF-10 和 BF-24 的含量低于药典对槐米浸出物的要求。南方产槐米样品中总黄酮含量在 20.10% ~ 42.98% 之间, 均符合药典规定; 北方产样品总黄酮含量在 9.91% ~ 25.55% 之间, 仅有 7 批 (BF-2、BF-7、BF-8、BF-11、BF-13、BF-18 和 BF-24) 合格, 说明南方产槐米样品普遍优于北方。

表 2 槐米中水分、灰分、浸出物和总黄酮测定结果 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Table 2 The determination of moisture, ash, total flavonoids extract in *Flos Sophorae Immaturus* ($n=3, \bar{x} \pm s$)

编号 No.	水分 Moisture (%)	总灰分 Total ash (%)	酸不溶性灰分 Acid-insoluble ash (%)	30% 乙醇浸出物 30% Ethnaol extract (%)	总黄酮 Total flavonoids (%)
BF-1	9.46 ± 0.13	5.57 ± 0.82	1.02 ± 0.03	52.56 ± 1.68	17.90 ± 0.93 [#]
BF-2	8.56 ± 0.21	6.22 ± 0.67	1.83 ± 0.31	48.11 ± 1.38	20.66 ± 0.64
BF-3	7.21 ± 0.18	7.62 ± 0.38	1.19 ± 0.18	43.71 ± 5.45	15.74 ± 0.63 [#]
BF-4	8.23 ± 0.46	6.73 ± 0.78	2.02 ± 0.61	42.66 ± 2.50 [#]	17.76 ± 0.16 [#]
BF-5	9.46 ± 0.38	8.75 ± 0.82	2.04 ± 0.17	47.91 ± 2.31	13.70 ± 0.12 [#]
BF-6	9.91 ± 0.52	7.39 ± 0.68	1.99 ± 0.38	36.64 ± 0.72 [#]	10.99 ± 0.85 [#]
BF-7	7.21 ± 0.65	5.47 ± 0.81	1.67 ± 0.52	48.66 ± 3.91	20.96 ± 0.82
BF-8	7.47 ± 0.28	7.32 ± 0.19	1.92 ± 0.51	50.16 ± 0.14	24.39 ± 1.63
BF-9	8.56 ± 0.18	7.41 ± 0.65	2.19 ± 0.38	32.38 ± 1.79 [#]	10.58 ± 0.52 [#]
BF-10	7.66 ± 0.47	5.16 ± 0.93	0.91 ± 0.07	37.66 ± 3.31 [#]	17.20 ± 0.43 [#]
BF-11	8.62 ± 0.72	7.76 ± 0.72	1.92 ± 0.37	46.60 ± 1.72	22.98 ± 0.60
BF-12	4.95 ± 0.71	7.50 ± 0.28	2.10 ± 0.45	43.70 ± 2.46	19.57 ± 1.13 [#]
BF-13	10.36 ± 0.85	7.79 ± 0.60	2.21 ± 0.57	44.77 ± 5.09	25.55 ± 0.72
BF-14	9.46 ± 0.77	6.04 ± 0.39	1.30 ± 0.82	47.03 ± 3.50	18.75 ± 0.53 [#]
BF-15	4.83 ± 0.19	7.81 ± 0.98	1.71 ± 0.48	47.98 ± 3.48	11.99 ± 1.04 [#]

续表 2(Continued Tab. 2)

编号 No.	水分 Moisture (%)	总灰分 Total ash (%)	酸不溶性灰分 Acid-insoluble ash (%)	30%乙醇浸出物 30% Ethnaol extract (%)	总黄酮 Total flavonoids (%)
BF-16	7.70 ± 0.83	3.42 ± 0.55	0.73 ± 0.01	47.74 ± 4.15	17.72 ± 0.19 [#]
BF-17	9.91 ± 0.36	8.47 ± 0.36	1.99 ± 0.78	47.08 ± 5.10	9.91 ± 0.22 [#]
BF-18	7.61 ± 0.62	6.32 ± 0.84	1.70 ± 0.25	50.45 ± 1.00	21.50 ± 1.09
BF-19	10.36 ± 0.82	7.71 ± 0.20	2.91 ± 0.80	45.70 ± 0.30	14.93 ± 1.10 [#]
BF-20	9.51 ± 0.91	6.93 ± 0.82	1.47 ± 0.29	44.22 ± 2.00	16.34 ± 0.36 [#]
BF-21	10.81 ± 0.17	6.51 ± 0.39	1.38 ± 0.02	46.33 ± 2.29	19.68 ± 0.07 [#]
BF-22	8.56 ± 0.64	7.81 ± 0.34	1.58 ± 0.11	43.60 ± 1.22	18.50 ± 0.13 [#]
BF-23	5.40 ± 0.18	7.40 ± 0.73	2.01 ± 0.42	44.72 ± 2.65	18.79 ± 0.20 [#]
BF-24	9.71 ± 0.39	6.02 ± 0.29	1.80 ± 0.52	41.15 ± 4.47 [#]	23.90 ± 0.02
BF-25	6.31 ± 0.52	8.38 ± 0.47	2.21 ± 0.36	46.03 ± 1.38	13.42 ± 0.46 [#]
NF-1	10.81 ± 0.92	5.03 ± 0.66	1.03 ± 0.30	48.90 ± 2.42	20.10 ± 0.67
NF-2	8.61 ± 4.59	8.19 ± 0.49	2.18 ± 0.32	43.69 ± 3.04	38.30 ± 0.55
NF-3	7.62 ± 0.49	8.20 ± 1.13	1.78 ± 0.05	48.95 ± 1.66	39.08 ± 0.54
NF-4	6.92 ± 0.61	6.38 ± 0.63	1.39 ± 0.33	45.43 ± 0.70	22.20 ± 0.98
NF-5	7.59 ± 0.82	7.29 ± 0.81	2.23 ± 0.47	44.55 ± 1.30	39.67 ± 1.17
NF-6	8.80 ± 0.31	8.11 ± 0.47	2.08 ± 0.31	47.78 ± 3.51	22.98 ± 0.74
NF-7	9.21 ± 0.45	8.39 ± 0.99	1.87 ± 0.62	45.34 ± 4.66	34.75 ± 1.89
NF-8	10.17 ± 0.42	7.02 ± 0.46	2.01 ± 0.49	49.64 ± 3.13	38.25 ± 0.73
NF-9	9.82 ± 0.73	6.64 ± 0.83	1.19 ± 0.13	46.56 ± 2.19	35.43 ± 0.56
NF-10	8.83 ± 0.86	6.45 ± 0.42	1.01 ± 0.28	49.99 ± 1.34	42.98 ± 0.45
NF-11	9.83 ± 0.12	7.22 ± 0.47	2.17 ± 0.22	46.48 ± 1.89	36.17 ± 0.45
NF-12	10.28 ± 0.41	8.28 ± 0.73	1.93 ± 0.20	45.38 ± 2.19	35.24 ± 0.46
NF-13	10.11 ± 0.68	5.39 ± 0.94	1.32 ± 0.52	48.31 ± 1.19	41.60 ± 0.62
NF-14	6.32 ± 0.91	8.42 ± 0.85	2.00 ± 0.03	44.64 ± 2.11	34.98 ± 0.84
NF-15	7.49 ± 0.82	7.21 ± 0.17	2.02 ± 0.12	46.87 ± 2.89	38.02 ± 0.80
NF-16	7.73 ± 0.29	8.39 ± 0.77	2.38 ± 0.48	46.66 ± 5.79	37.25 ± 0.11
NF-17	8.92 ± 0.73	6.62 ± 0.50	1.81 ± 0.33	50.49 ± 1.17	35.46 ± 0.42
NF-18	9.01 ± 0.37	8.93 ± 0.85	2.33 ± 0.47	45.27 ± 3.98	37.51 ± 0.47
NF-19	9.96 ± 0.82	8.30 ± 0.41	2.62 ± 0.81	55.11 ± 1.78	32.91 ± 0.26
NF-20	10.13 ± 0.56	7.79 ± 0.83	1.88 ± 0.30	47.19 ± 2.35	31.06 ± 0.79
NF-21	8.31 ± 0.79	6.48 ± 0.31	1.19 ± 0.07	51.27 ± 3.78	37.81 ± 0.50
NF-22	7.23 ± 0.17	5.32 ± 0.81	1.12 ± 0.01	48.68 ± 4.07	32.16 ± 0.66
NF-23	8.29 ± 0.42	6.39 ± 0.96	1.43 ± 0.29	50.28 ± 3.14	38.45 ± 0.26
NF-24	8.47 ± 0.91	5.22 ± 0.39	0.99 ± 0.27	51.72 ± 4.18	36.66 ± 0.36
NF-25	9.25 ± 0.31	7.19 ± 0.98	1.28 ± 0.09	46.16 ± 2.87	31.89 ± 0.67
NF-26	8.73 ± 0.27	8.53 ± 0.82	2.93 ± 0.35	48.36 ± 2.19	33.66 ± 0.84
NF-27	7.79 ± 3.17	8.17 ± 0.10	1.83 ± 0.49	44.78 ± 1.98	39.55 ± 0.83
NF-28	6.53 ± 0.86	6.93 ± 0.38	1.42 ± 0.28	45.83 ± 2.02	39.12 ± 0.79
NF-29	9.27 ± 0.78	7.49 ± 0.40	1.67 ± 0.39	46.83 ± 1.19	26.04 ± 0.68
药典规定 Pharmacoepial regulations	11.00	9.00	3.00	43.00	20.00

注：“#”表示低于药典规定。

Note：“#” indicates that the content is below the Pharmacopeial regulations.

3.2 4种黄酮类成分含量测定

按“2.2.3”项下方法每个样品平行制备3份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样检测,记录

色谱图。根据线性方程分别计算芦丁、水仙苷、槲皮素和异鼠李素的百分含量,结果见表3。

表3 槐米中4种成分含量测定结果 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Determination results of 4 components in *Flos Sophorae Immaturus* ($n=3, \bar{x} \pm s$)

编号 No.	芦丁 Rutin (%)	水仙苷 Narcissin (%)	槲皮素 Quercitrin (%)	异鼠李素 Isorhamnetin (%)	PCA 得分排序 PCA score sort
BF-1	16.379 0 ± 1.410 5	1.017 5 ± 0.077 1	0.279 0 ± 0.001 4	-	34
BF-2	18.303 2 ± 0.115 1	0.877 1 ± 0.016 9	0.361 3 ± 0.009 7	-	33
BF-3	13.534 3 ± 0.012 1 [#]	1.264 1 ± 0.397 7	0.517 6 ± 0.001 5	0.077 9 ± 0.000 4	30
BF-4	13.948 1 ± 0.847 0 [#]	1.769 5 ± 0.132 7	0.357 6 ± 0.008 3	0.062 6 ± 0.002 2	28
BF-5	11.075 5 ± 1.243 1 [#]	0.524 1 ± 0.061 5	0.809 0 ± 0.005 3	0.073 6 ± 0.000 1	48
BF-6	5.530 0 ± 0.542 8 [#]	0.124 2 ± 0.009 3	3.815 0 ± 0.348 0	0.136 4 ± 0.009 2	52
BF-7	19.558 2 ± 0.799 1	0.758 8 ± 0.048 7	-	-	40
BF-8	21.879 5 ± 0.432 9	2.083 3 ± 0.060 6	-	-	24
BF-9	6.897 5 ± 1.013 1 [#]	0.813 6 ± 0.128 2	-	-	54
BF-10	11.654 5 ± 0.021 5 [#]	1.375 6 ± 0.464 9	-	-	39
BF-11	18.642 8 ± 1.110 7	0.825 5 ± 0.052 7	0.370 3 ± 0.007 9	-	36
BF-12	16.309 9 ± 1.509 3	0.570 8 ± 0.029 9	0.413 2 ± 0.016 8	-	47
BF-13	18.613 4 ± 1.044 3	0.971 4 ± 0.064 2	0.740 2 ± 0.013 0	0.069 4 ± 0.003 2	29
BF-14	12.916 5 ± 0.843 3 [#]	0.568 7 ± 0.028 0	0.180 0 ± 0.011 4	-	50
BF-15	10.462 9 ± 1.823 4 [#]	0.674 2 ± 0.108 7	0.357 7 ± 0.033 6	-	51
BF-16	16.572 0 ± 0.498 6	0.570 8 ± 0.029 9	0.4077 ± 0.008 7	-	46
BF-17	8.423 8 ± 0.205 3 [#]	0.683 5 ± 0.017 9	0.275 6 ± 0.001 7	-	53
BF-18	19.863 0 ± 0.314 9	0.973 2 ± 0.535 6	0.177 6 ± 0.002 7	-	31
BF-19	13.008 2 ± 0.375 0 [#]	1.193 5 ± 0.024 0	0.513 8 ± 0.010 0	0.069 5 ± 0.001 7	32
BF-20	14.475 1 ± 0.766 7 [#]	1.150 2 ± 0.060 4	0.279 2 ± 0.001 4	-	35
BF-21	17.449 3 ± 1.219 8	0.655 9 ± 0.045 4	0.294 1 ± 0.005 4	-	44
BF-22	16.277 0 ± 1.162 6	0.661 8 ± 0.045 6	0.359 4 ± 0.009 1	-	45
BF-23	17.234 6 ± 0.586 9	0.881 7 ± 0.139 5	0.247 2 ± 0.011 6	-	41
BF-24	20.086 2 ± 2.567 8	0.418 1 ± 0.067 9	0.504 2 ± 0.023 8	0.085 9 ± 0.000 8	42
BF-25	12.314 4 ± 1.049 2 [#]	0.611 4 ± 0.061 2	0.280 7 ± 0.016 0	-	49
NF-1	18.402 2 ± 0.082 8	0.815 3 ± 0.131 4	0.450 1 ± 0.008 0	-	38
NF-2	35.365 2 ± 0.268 4	1.017 2 ± 0.026 0	0.776 4 ± 0.033 0	-	23
NF-3	36.533 6 ± 0.425 2	0.803 1 ± 0.011 4	0.817 2 ± 0.012 9	-	26
NF-4	20.045 1 ± 0.005 6	0.544 6 ± 0.007 0	0.619 1 ± 0.001 4	-	43
NF-5	35.723 5 ± 0.423 0	0.991 9 ± 0.185 7	0.334 4 ± 0.015 6	-	25
NF-6	21.118 3 ± 0.846 5	0.669 0 ± 0.025 4	0.181 6 ± 0.004 3	-	37
NF-7	31.793 5 ± 0.225 4	1.380 8 ± 0.027 0	0.209 6 ± 0.002 1	-	22
NF-8	33.993 6 ± 0.379 3	2.339 6 ± 0.025 2	0.699 7 ± 0.007 0	-	5
NF-9	28.964 9 ± 0.266 5	1.700 2 ± 0.037 2	3.502 8 ± 0.087 3	-	17
NF-10	38.759 8 ± 0.393 3	2.657 6 ± 0.011 2	0.312 4 ± 0.001 3	-	1

续表 3 (Continued Tab. 3)

编号 No.	芦丁 Rutin (%)	水仙苷 Narcissin (%)	槲皮素 Quercitrin (%)	异鼠李素 Isorhamnetin (%)	PCA 得分排序 PCA score sort
NF-11	32.217 3 ± 0.713 0	2.802 8 ± 0.088 1	0.234 2 ± 0.020 5	-	4
NF-12	30.948 2 ± 0.192 1	2.494 0 ± 0.021 8	0.564 1 ± 0.013 5	-	8
NF-13	37.801 1 ± 0.153 7	2.558 5 ± 0.006 0	0.154 0 ± 0.001 9	-	3
NF-14	30.125 6 ± 0.330 9	1.906 0 ± 0.016 9	1.533 5 ± 0.012 8	-	18
NF-15	34.278 6 ± 0.521 8	2.217 3 ± 0.083 2	0.521 8 ± 0.005 3	-	9
NF-16	31.822 9 ± 1.643 0	1.890 5 ± 0.163 4	2.344 6 ± 0.078 9	0.152 1 ± 0.006 3	7
NF-17	29.446 6 ± 0.339 4	1.513 0 ± 0.157 4	3.491 9 ± 0.203 2	0.230 3 ± 0.007 9	12
NF-18	31.242 6 ± 1.184 4	1.941 7 ± 0.085 5	1.844 6 ± 0.072 0	0.120 4 ± 0.005 5	11
NF-19	24.993 7 ± 0.215 1	1.171 5 ± 0.217 7	4.539 4 ± 0.017 2	0.270 0 ± 0.000 4	20
NF-20	26.726 8 ± 0.527 2	1.576 1 ± 0.018 8	1.940 6 ± 0.004 8	0.117 8 ± 0.001 0	21
NF-21	30.902 6 ± 0.322 5	1.537 7 ± 0.010 9	3.618 8 ± 0.062 0	0.200 9 ± 0.003 1	10
NF-22	25.462 2 ± 1.125 6	1.458 8 ± 0.071 5	4.034 0 ± 0.142 7	0.234 5 ± 0.008 5	15
NF-23	33.733 8 ± 0.617 4	1.745 1 ± 0.036 7	2.415 3 ± 0.006 4	0.154 7 ± 0.000 7	6
NF-24	31.829 7 ± 1.919 9	1.644 3 ± 0.459 4	1.548 5 ± 0.037 7	0.112 6 ± 0.002 7	14
NF-25	25.948 2 ± 2.217 6	1.627 4 ± 0.144 8	3.119 4 ± 0.223 3	0.189 4 ± 0.012 0	16
NF-26	27.345 7 ± 1.842 8	1.452 8 ± 0.987 1	3.211 5 ± 0.310 1	0.175 4 ± 0.008 6	19
NF-27	36.354 0 ± 1.478 1	2.730 9 ± 0.169 2	0.266 5 ± 0.010 6	-	2
NF-28	35.562 2 ± 0.738 4	1.452 5 ± 0.968 4	0.621 8 ± 0.102 7	0.215 4 ± 0.038 6	13
NF-29	20.437 8 ± 0.812 3	1.009 7 ± 0.038 4	3.779 7 ± 0.109 7	0.230 7 ± 0.005 6	27
药典规定 Pharmacoepial regulations	15	未控制 Uncontrolled	未控制 Uncontrolled	未控制 Uncontrolled	-

注：“-”表示在当前浓度下未检出；“#”表示低于药典规定。

Note:“-” indicates that no concentration was detected at the current concentration;“#” indicates that the content is below the Pharmacopeial regulations.

由结果可知,南方产槐米样品中芦丁含量在 18.402 2% ~ 37.801 1% 之间,均符合药典规定;其中武汉(NF-1)产槐米中芦丁含量最低,推测这与其处于平原地区,气候与其他中南、西南高海拔产区差异较大有关。北方产样品芦丁含量在 5.530 0% ~ 21.879 5% 之间,其中约有一半不合格。

南方和北方样品中水仙苷、槲皮素和异鼠李素含量也有较大差异。水仙苷含量分别为 0.544 6% ~ 2.802 8% 和 0.124 2% ~ 1.796 5%;而槲皮素和异鼠李素含量在北方样品中均出现了未检出的情况,且明显南方样品优于北方样品。

3.3 化学模式识别

3.3.1 聚类分析

浸出物、总黄酮及单个黄酮类成分含量是评价槐米质量的重要指标。本研究以浸出物、总黄酮含量、芦丁、水仙苷、槲皮素和异鼠李素含量的标准化

数据为变量,运用 SPSS 20.0 软件,以平方欧氏距离作为度量标准,对 54 批样品进行系统聚类分析,结果见图 2。54 批样品共被分为 3 大类,其中北方产槐米被聚为一类;南方产槐米可分为 2 类,产于湖南、云南、广西的被归为一类,产于重庆、四川的被归为一类。结果表明,南、北方所产槐米质量有较大差异,说明槐米的质量受地域及气候的影响较大。

3.3.2 主成分分析

运用 SPSS 20.0 软件,以槐米中芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素含量作为变量,以特征值和累计贡献率作为判定依据,对不同产地槐米进行主成分分析。根据降维结果,共挑选出 2 个主成分 PC1、PC2,特征值分别为 2.036、1.510。各成分方差贡献值分别为 50.893%、37.751%,累积贡献值达到 88.644%,具有较强的代表性,可用来评价槐米的质量。

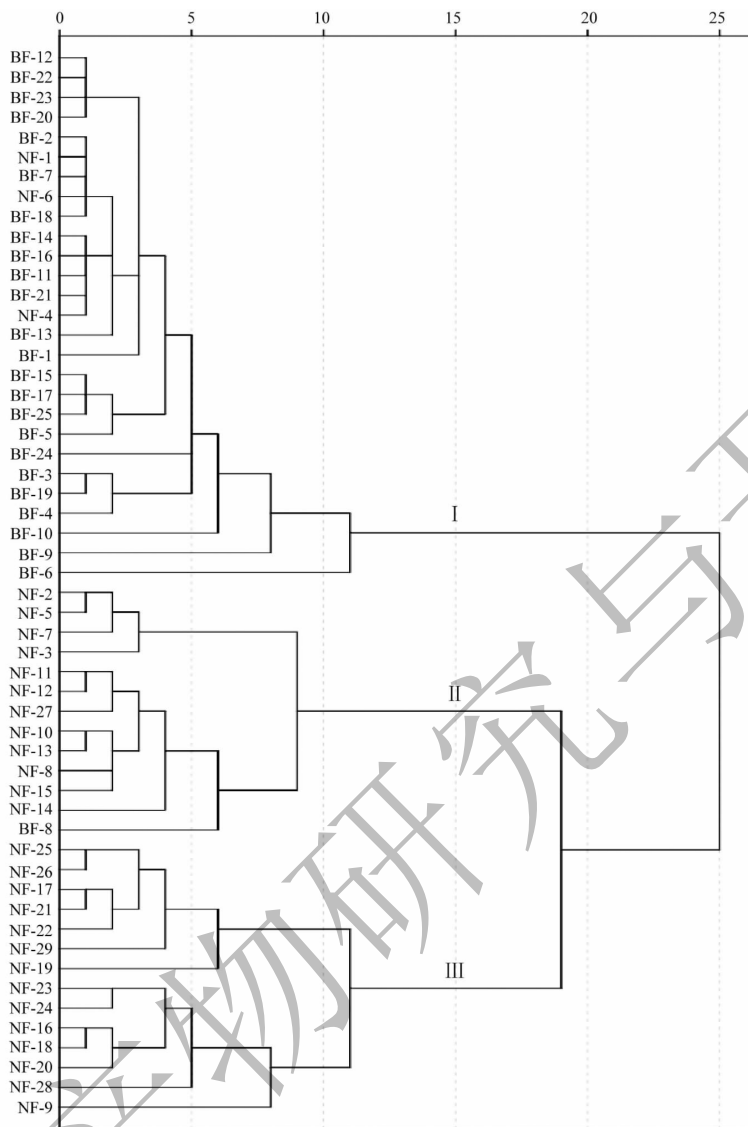


图2 槐米样品聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of *Flos Sophorae Immaturus*

表4 因子载荷矩阵

Table 4 Initial factor load matrix

化合物 Analyte	主成份 Principal component	
	1	2
芦丁 Rutin	0.666	0.640
水仙苷 Narcissin	0.563	0.738
槲皮素 Quercetin	0.805	-0.518
异鼠李素 Isorhamnetin	0.792	-0.537

$$PC1 = 0.327 ZX_1 + 0.227 ZX_2 + 0.395 ZX_3 - 0.389 ZX_4$$

$$PC2 = 0.424 ZX_1 + 0.489 ZX_2 + 0.343 ZX_3 + 0.356 ZX_4$$

ZX_1 、 ZX_2 、 ZX_3 、 ZX_4 分别为芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素的标准化值。

$$Y = 0.574 PC1 + 0.426 PC2$$

利用上式计算各地槐米质量综合得分并按结果高低进行排序,结果见表3。得分越高,表明槐米质量越好,排名越靠前。排名靠前的样品多产于南方地区,排名靠后的多产于北方地区,说明南方产槐米质量普遍优于北方。由主成分得分图(图3)可知,除甘肃省礼县红河镇的一批样品(BF-6)离散,其它

根据各因子载荷矩阵及特征值计算得分系数,进一步得到 $PC1$ 、 $PC2$ 及综合得分(Y)方程式:

产地样品可分为3大类。其中产地位于南方的可分为2大类,产地位于北方的聚集为1类,分类结果与聚类分析结果一致,均表明槐米样品质量受南、北方地域因素的影响较大。此外,由表4及图4可知,PC1主要反映了槲皮素和异鼠李素的信息,PC2主要反映了水仙苷的信息;PC1和PC2对芦丁信息的反应程度相近。因此Ⅱ类与Ⅰ、Ⅲ类分开的主要原因是前者含有较高的水仙苷,Ⅰ类与Ⅲ类分开的主要原因则是槲皮素和异鼠李素含量的差异。

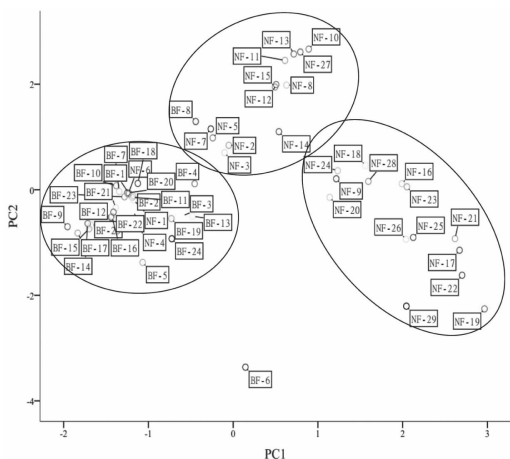


图3 主成分得分图

Fig. 3 Scores plot from principal component analysis

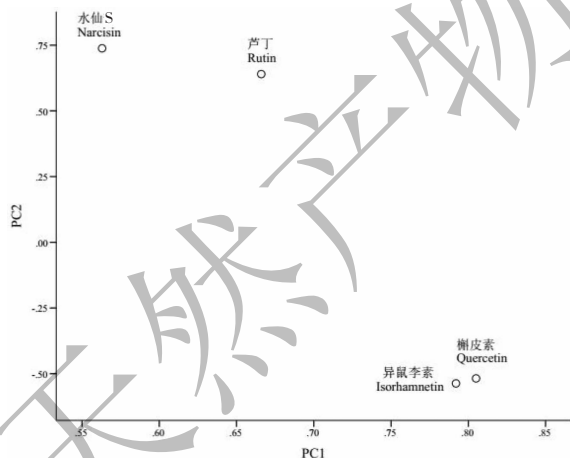


图4 主成分因子分析图

Fig. 4 Loadings plots from principal component analysis

4 结论

本研究建立了可同时检测芦丁、水仙苷、槲皮素和异鼠李素4种黄酮类成分的HPLC方法,方法学验证均符合药典中相关规定,表明该方法准确、可行。由于槐米中芦丁的含量很高,是其他成分的几

十倍,故在对槐米进行质量控制时,大多只检测芦丁一种成分^[1]。但有研究表明,槐米中芦丁和槲皮素的含量在槐米的成长过程中是反向变化的^[12],且其他黄酮类成分也具有较强的药理活性^[13-16],因此有必要对槐米中多种成分进行检测。本实验分别选用了WATERS Symmetry C₁₈、SWELL Chromplus® C18和Inertsil® ODS-3三种类型色谱柱,Agilent 1260和1200两个系列高效液相色谱仪,对不同药材粉末浓度(0.4~2.0 mg/mL)提取液中芦丁的吸附饱和度进行考察。结果表明,当提取液药材粉末浓度为2.0 mg/mL时,三种色谱柱均未达到饱和,芦丁色谱峰面积重复性较好(RSD ≤ 2%),且在两个系列的高效液相色谱仪上均能检测到多数样品中水仙苷、槲皮素的峰面积和部分样品中异鼠李素的峰面积,并可做定量检测(≥ LOQ)。

此外,本研究对全国各主要产地槐米的质量指标进行了较全面地考察。通过化学模式识别法分析浸出物、总黄酮和芦丁、水仙苷、槲皮素、异鼠李素含量,结果可将54批槐米样品分为3大类,表明其质量与地域有较大相关性。南方产槐米的质量普遍优于北方产槐米,其中以重庆、广西、湖南为代表的西南、中南地区所产槐米质量优异,表明海拔和气候对药材质量有较大影响^[17-19]。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2015: 354.
- 2 Lao CJ, Lin JG, Kuo JS, *et al.* Microglia, apoptosis and interleukin-1 β expression in the effect of *Sophora japonica* L. on cerebral infarct induced by ischemia-reperfusion in rats[J]. *Am J Chinese Med*, 2005, 33: 425-438.
- 3 Akula A, Challa SR, Raju BA, *et al.* Cardioprotective actions of two bioflavonoids, quercetin and rutin, in experimental myocardial infarction in both normal and streptozotocin-induced type I diabetic rats[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2009, 61: 1365-1374.
- 4 Abdelhady MIS, Kamal AM, Othman SM, *et al.* Total polyphenolic content, antioxidant, cytotoxic, antidiabetic activities, and polyphenolic compounds of *Sophora japonica* grown in Egypt[J]. *Med Chem Res*, 2014, 24: 482-495.
- 5 Yao W, Wang S, Chen Y, *et al.* Composition and antibacterial activity of essential oils of *Flos Sophorae Immaturus*[J]. *Int J Food Prop*, 2011, 14: 903-913.