

RP-HPLC法同时测定蒙药蓝盆花中木犀草素和芹菜素的含量^Δ

王美丽*, 田 香, 白玉霞[#](内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028300)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)18-2540-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.18.31

摘要 目的:建立同时测定蒙药蓝盆花中木犀草素和芹菜素含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Diamond C₁₈,流动相为乙腈-0.4%磷酸(34:66,V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为350 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:木犀草素和芹菜素的检测进样量线性范围分别为66~396 ng($r=0.999\ 8$)、93~558 ng($r=0.999\ 6$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为98.15%~101.79%(RSD=1.42%, $n=6$)、98.66%~104.05%(RSD=1.81%, $n=6$)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于同时测定蒙药蓝盆花中木犀草素和芹菜素的含量。

关键词 蒙药蓝盆花;木犀草素;芹菜素;反相高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Luteolin and Apigenin in Mongolian Medicine *Scabiosa atropurea* by RP-HPLC

WANG Meili, TIAN Xiang, BAI Yuxia(Collage of Mongolian Medicine and Pharmacy, Inner Mongolia University for the Nationalities, Inner Mongolia Tongliao 028300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of luteolin and apigenin in Mongolian medicine *Scabiosa atropurea*. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamond C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (34:66, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 350 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 66-396 ng for luteolin ($r=0.999\ 8$) and 93-558 ng for apigenin ($r=0.999\ 6$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 98.15% -101.79% (RSD=1.42%, $n=6$) and 98.66% -104.05% (RSD=1.81%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple with good precise, stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of luteolin and apigenin in Mongolian medicine *S. atropurea*.

KEYWORDS Mongolian medicine *Scabiosa atropurea*; Luteolin; Apigenin; RP-HPLC

参考文献

- [1] 姜丽,鲁金凤,裴明日.火焰原子吸收分光光度法测定复方氯化钠注射液中氯化钾含量[J].中国卫生标准管理,2014,19(5):6.
- [2] 吴美珠,刘燕.四苯硼钠沉淀剩余滴定法测定复方氯化钠注射液中氯化钾的含量[J].中国医院药学,2003,23(3):183.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:590-591.
- [4] 夏曙辉,任海洋,李黎.复方氯化钠注射液中氯化钾含量测定方法的改进[J].华西药学杂志,2002,17(5):376.
- [5] 易涛,李成容,李琳丽,等.高精度散射光度滴定法测定复方氯化钠注射液中氯化钾的含量[J].华西药学杂志,2003,18(2):108.
- [6] 全英花,桂光云,王美玲,等.火焰光度法测定复方氯化钠注射液中氯化钾含量[J].中国药品标准,2008,9(5):357.
- [7] 李建理,钱立群,候景航,等.可见分光光度法测定复方氯化钠注射液中氯化钾含量的研究[J].宁夏医学院学报,1999,21(3):161.
- [8] 童永鑫,何宇新.原子吸收光谱法测定复方氯化钠注射液中氯化钙含量[J].西华大学学报:自然科学版,2014,33(2):93.
- [9] 宋敏,李苗.离子色谱法同时测定复方氯化钠注射液各组分的含量[J].中国药品标准,2013,14(2):110.
- [10] 陈阳,郭丹,金薇,等.ICP-AES法测定肠内营养乳剂(TPF-D)中4种元素的含量[J].药物分析杂志,2014,34(8):1435.
- [11] 陈阳,郁韵秋.电感耦合等离子体发射光谱法测定脂肪乳氨基酸(17)葡萄糖(11%)注射液中钾、钠、钙、镁的含量[J].中国药房,2012,23(25):2374.
- [12] 周伟明,王如意,陈柳生,等.ICP-OES法测定马缨丹不同部位中22种无机元素的含量[J].中药材,2014,37(9):1546.
- [13] 周伟明,陈妍,李华锦,等.离子色谱法测定复方氯化钠注射液中总氯的含量[J].黑龙江医药,2015,28(6):1179.

(收稿日期:2015-10-21 修回日期:2016-05-09)

(编辑:周 箐)

^Δ 基金项目:国家科技支撑计划项目(No.2012BAI28B01);内蒙古自治区科技计划项目(No.2010NMKJJH15)

* 硕士研究生。研究方向:蒙药及复方制剂质量标准。E-mail:1551377441@qq.com

[#] 通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:蒙药及蒙药制剂质量标准。电话:0475-8314242。E-mail:byx6088@163.com

蒙药蓝盆花(又称蒙古山萝卜花)为川续断科植物窄叶蓝盆花 *Scabiosa comosa* Frisch. ex Roem. et Schultz 和华北蓝盆花 *Scabiosa tschilliensis* Gunning 的干燥花序。蒙药名为陶森-陶日莫^[1], 异名为乌赫日音-叔鲁苏-乌布斯^[2]、尼拉-乌达巴拉^[3]、乌达巴拉-温布^[4], 蒙古国蒙医称布日特其其格^[5]。主产于内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁、河北等省区^[4]。《中华人民共和国卫生部药品标准》中规定两者均可作为正品药用。其具有甘、涩、钝、燥、腻、重、凉等性味, 清热、清“协日”之功能。用于肺热、肝热、咽喉热、肝火头痛、发烧、黄疸等病的治疗。有文献报道, 木犀草素具有消炎、抗过敏、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等作用; 芹菜素具有抗肿瘤、抗炎、降血压和舒张血管、抗动脉硬化和血栓、抗焦虑、抗菌、抗病毒等作用^[6]。白玉霞等^[7]对兰盆花进行了指纹图谱研究。蓝盆花临床应用广泛且疗效较好。虽收载于《中华人民共和国卫生部药品标准蒙药分册》(1998年版), 但没有含量测定项。故本研究采用高效液相色谱(HPLC)法对蓝盆花中木犀草素和芹菜素的含量进行了测定。

1 材料

1.1 仪器

LC-10A型HPLC仪(包括二极管阵列检测器)、AW120型电子分析天平(日本Shimadzu公司); KQ5200DB型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); ZF-I型紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限责任公司); HH-S26S型数显恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂)。

1.2 试剂

芹菜素对照品(批号: 111901-201102, 纯度>99%)、木犀草素对照品(批号: 111520-201104, 纯度>99%)均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 甲醇、磷酸均为分析纯, 水为超纯水。

1.3 药材

蓝盆花药材采自内蒙古锡林郭勒、通辽罕山、巴林右旗、蒙古国等产地, 经内蒙古民族大学蒙医药学院吴香杰教授鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamond C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4%磷酸(34:66, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 350 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取芹菜素和木犀草素对照品5.30、3.30 mg, 分别置于10 ml量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制成芹菜素、木犀草素质量浓度分别为0.53、0.33 mg/ml的单一对照品溶液。取上述单一芹菜素对照品溶液70 μl, 置于500 ml量瓶中, 用甲醇定容, 制成质量浓度为74.2 μg/ml的芹

菜素对照品溶液; 取上述单一木犀草素对照品溶液80 μl, 置于500 ml量瓶中, 用甲醇定容, 制成质量浓度为52.8 μg/ml的木犀草素对照品溶液。取上述两种对照品溶液以1:1比例混合, 即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品适量, 研细, 取约1 g, 精密称定, 置于100 ml回流提取器中, 精密加入甲醇20 ml, 密塞, 称定质量, 回流提取0.5 h, 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2 ml, 置于5 ml量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 经0.45 μm微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱, 详见图1。由图1可知, 理论板数以木犀草素峰计>3 000, 分离度均>1.5, 各成分基线分离良好。

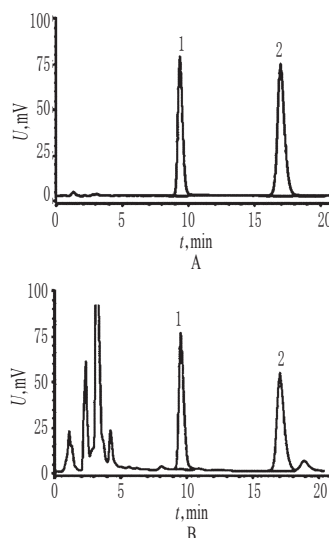


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品; B.供试品; 1.木犀草素; 2.芹菜素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed control; B.test sample; 1.luteolin; 2.apigenin

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以木犀草素和芹菜素进样量(x, ng)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得木犀草素、芹菜素回归方程分别为 $y=1\ 467.5x+28\ 125$ ($r=0.999\ 8$)、 $y=1\ 513.3x+40\ 907$ ($r=0.999\ 6$)。结果表明, 木犀草素、芹菜素检测进样量线性范围分别为66~396、93~558 ng。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果, 木犀草素、芹菜素峰面积的RSD分别为1.36%、1.87%($n=6$), 表明仪器精密程度良好。

2.6 稳定性试验

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

产地	木犀草素,mg/g	RSD,%	芹菜素,mg/g	RSD,%
内蒙古锡林郭勒	0.48	1.86	0.92	1.55
内蒙古通辽罕山	1.19	0.76	1.55	0.75
内蒙古巴林右旗	0.18	1.03	0.24	1.12
蒙古国1	0.34	1.72	0.47	0.65
蒙古国2	0.42	0.99	0.61	1.43

3.2 流动相的选择

笔者对流动相进行了优选,包括不同比例的甲醇-水、甲醇-磷酸、乙腈-水、乙腈-磷酸等,最终选用乙腈-0.4%磷酸为流动相。在该流动相下,木犀草素和芹菜素均与其他成分间的分离效果良好。

3.3 样品含量测定结果分析

本研究对蓝盆花中木犀草素与芹菜素成分进行定量分析,可为蓝盆花药材的质量控制提供一定参考。本研究测定的不同产地蓝盆花药材中的两种成分含量均有所差异,可能与药材的采收时间、生长环境等因素有关。

综上所述,本方法操作简便,精密度、稳定性、重复性好,可用于同时测定蒙药蓝盆花中木犀草素和芹菜素的含量。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草:蒙药卷[M].上海:上海科学技术出版社,2004:385.
- [2] 朱亚明.内蒙古植物药志[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2000:113.
- [3] 罗布桑.蒙药学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006:251.
- [4] 王国英,薛培凤,高汝燕,等.紫外可见分光光度法测定蒙药蓝盆花中总黄酮的含量[J].中国药房,2010,21(2):219.
- [5] MA SR. Flora[M].Ulan Bator:BIT Press com,2007:323.
- [6] 中华人民共和国卫生部.中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[S].1998:52.
- [7] 白玉霞,通拉嘎.蒙药蓝盆花 HPLC 指纹图谱研究[J].中国现代应用药学,2013,30(6):610.

(收稿日期:2015-07-11 修回日期:2015-12-26)

(编辑:张 静)

取“2.2.2”项下供试品溶液(产地:通辽罕山)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,木犀草素、芹菜素峰面积的RSD分别为1.41%、1.56%(n=7),表明供试品溶液在12 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(产地:通辽罕山)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,木犀草素、芹菜素峰面积的RSD分别为1.78%、1.94%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(产地:通辽罕山)6份,每份0.5 g,分别加入一定质量的木犀草素、芹菜素对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
木犀草素	1.18	2.42	3.64	101.65	100.96	1.42
	1.22	2.38	3.64	101.68		
	0.98	2.40	3.34	98.15		
	1.02	2.36	3.42	101.79		
	1.22	2.27	3.51	100.85		
	1.18	2.25	3.47	101.64		
芹菜素	1.57	2.25	3.89	103.11	101.67	1.81
	1.63	2.21	3.85	100.45		
	1.31	2.23	3.57	101.32		
	1.36	2.17	3.62	104.05		
	1.63	1.99	3.59	98.66		
	1.57	2.04	3.65	101.99		

2.9 样品含量测定

取样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

通过对木犀草素和芹菜素进行紫外吸收曲线的分析,表明两者均在350 nm波长处有较高吸收,为方便检验,笔者选择检测波长为350 nm。

国家卫生计生委副主任王国强调研督查吉林省深化医改工作

本刊讯 2016年5月20日—22日,国家卫生计生委副主任、国家中医药管理局局长王国强一行赴吉林省调研深化医改工作,并对吉林省落实全国医疗卫生服务体系规划纲要和城市公立医院综合改革试点指导意见情况进行了督查。调研组听取了吉林省、长春市、延边朝鲜族自治州工作汇报,并实地考察了吉林大学第一附属医院、吉林省妇幼保健院、长春市中医院、长春市南湖社区卫生服务中心,以及延边大学附属医院、延边妇幼保健院、延吉市中医医院和延吉市朝阳川镇卫生院和村卫生室。

王国强充分肯定了吉林省深化医改工作。他指出,吉林省委、省政府高度重视深化医改工作,加强对深化医改工作组

织领导和统筹协调,较早编制印发了全省医疗卫生服务体系规划,有序启动了城市公立医院综合改革试点工作,不断扎牢全民医保制度,完善药品供应保障制度,大力发展中医药健康服务业,成效显著,群众获得感在不断增强。

王国强强调,吉林省是我国重要的老工业基地,面临着经济转型升级的重要机遇和挑战。希望吉林省尽快部署落实2016年深化医改重点工作,认真总结推广已有的改革经验,以公立医院综合改革、分级诊疗制度建设、健全全民医保体系、建立现代医院管理制度等作为重点,加强妇幼健康服务工作和中医药事业发展,扎实推进深化医改各项工作,助力吉林老工业基地全面振兴发展。