

RP-HPLC 测定大蓟中蒙花苷的含量*

★ 陈海芳** 袁金斌 魏玲 王发英 黎艳刚 涂明珠 杨武亮*** (江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:目的:建立 RP-HPLC 测定大蓟中蒙花苷的含量。方法:选用色谱柱为 Promosil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(1% 冰醋酸)(45:55); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 330 nm; 柱温 30℃。结果:蒙花苷进样量在 0.109 ~ 2.176 μg 范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.999\ 94, n=6$); 加样回收率 99.20% ($RSD=1.39%$) ($n=6$)。结论:本法简便快速、重现性好、准确可靠,可作大蓟药材中蒙花苷成分测定的有效方法。

关键词:大蓟;蒙花苷;RP-HPLC

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**B

大蓟为菊科植物蓟 *Cirsium japonicum* DC. 干燥地上部分或根,具有凉血止血、祛瘀消痈的功能^[1]。大蓟主要含有黄酮苷类物质,蒙花苷是其中的主要成分之一。为了进一步探讨大蓟中的药效物质基础,笔者对大蓟提取物不同极性部位的浸膏进行了毛细管法止血实验,初步表明水溶性部位具有止血功效,而蒙花苷为此部位的主要成分之一。有文献报道,蒙花苷具有抑制乙酰胆碱酯酶^[2]、镇静和促睡眠作用^[3]。另据药材市场调查,大蓟药材市场混乱,混用品有小蓟、飞廉。因此,本实验对不同产地的大蓟中的蒙花苷含量进行 HPLC 测定,以期为大蓟药效物质基础研究以及药材与饮片的质量控制提供参考依据。

1 实验部分

1.1 仪器 Agilent1200 高效液相色谱仪(四元泵、柱温箱、VWD 检测器和 Agilent 1200 色谱工作站);瑞士梅特勒 AE-240 十万分之一电子天平。

1.2 试剂 甲醇(HPLC 级, Merck 公司);其它试剂均为分析纯;水为重蒸水。蒙花苷标准品购自中国

药品生物制品检定所(批号:11528-200303)。大蓟样品分别采自江西、浙江两地,来源见表 2,由江西中医学院教育部重点实验室杨武亮教授鉴定。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Promosil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相:甲醇-水(1% 冰醋酸)(45:55), 流速:1 mL/min; 柱温:30℃; 检测波长:330 nm; 进样量 10 μL; 理论塔板数按照蒙花苷计算应不低于 5 000。

2.2 对照品溶液的配制 取蒙花苷约 10 mg,精密称定,置于 50 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,得浓度为 217.60 μg/mL 的对照品溶液,备用。

2.3 线性范围考察 精密吸取上述对照品溶液 0.5、1.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。在上述色谱条件下,分别进样 10 μL,以对照品浓度(μg/mL)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得标准曲线方程为: $Y=16.366\ 368X+8.271\ 579\ 6$, $r=0.999\ 94$,结果表明蒙花苷进样量在 0.109 ~

* 江西省卫生厅中医科研计划资助项目(赣卫中字[2007]20号)

** 作者简介:陈海芳(1979.1-),女,助教,研究方向:天然产物的研究与开发,电话:0791-7118657, E-mail:chenhf88@126.com

*** 通讯作者:杨武亮,男,教授,电话:0791-7118657, E-mail:yangwuliang@163.com

2. 176 μg 范围内呈良好线性关系。

2.4 供试品溶液制备 取大蓟全草,除杂,粉成粗粉。取药材粗粉约 0.5 g,精密称定,置 100 mL 烧瓶中,精密加入 50 mL 80% 乙醇,称重,水浴回流 1.5 小时,冷却,称重,用 80% 乙醇补足重量,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,取续滤液作供试品溶液。

2.5 精密度测定 精密吸取同一浓度的对照品溶液,连续进样 6 次,每次 10 μL ,按蒙花苷的峰面积计算 RSD 为 2.54% ($n=6$),结果表明精密度良好。

2.6 重现性测定 取同一大蓟粗粉 5 份,每份约 0.5 g,精密称定,按“2.4”项的方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定蒙花苷的含量,计算其 RSD 为 1.68% ($n=5$),结果表明本方法重现性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,自溶液配制后在 0、2、4、8、12、24 h 各进样 10 μL ,计算 RSD 为 1.25% ($n=6$),结果表明该溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率 取已知蒙花苷含量的大蓟药材粉末 0.25 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入对照品溶液(3.22 mg/mL) 1 mL,按“2.4”项操作方法制备供试品溶液,测定含量,计算平均回收率为 99.20%,RSD = 1.39% ($n=6$),具体见表 1。

表 1 加样回收率($n=6$)

样品中含 量/mg	加入对照品 的量/mg	测得量 /mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.274	3.220	6.477	99.47	99.20	1.39
3.274	3.220	6.435	98.17		
3.274	3.220	6.447	98.54		
3.274	3.220	6.464	99.07		
3.274	3.220	6.552	101.80		
3.274	3.220	6.434	98.14		

2.9 样品测定 取不同产地大蓟药材粗粉,按“2.4”项操作方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行测定,计算药材中蒙花苷的含量,测定结果

见表 2($n=3$)。

表 2 不同产地大蓟蒙花苷含量测定($n=3$)

编号	样品名称	样品来源	蒙花苷含量/%
1	大蓟	江西宜丰县	1.291
2	大蓟	江西于都盘古山	1.381
3	大蓟	江西南昌梅岭	1.628
4	大蓟	浙江宁海白桥	0.858
5	大蓟	浙江宁海水车	1.144

3 讨论

3.1 提取溶剂的考察 本实验考察了甲醇、60% 乙醇、70% 乙醇、80% 乙醇、90% 乙醇对大蓟药材中蒙花苷的提取率的影响,结果表明 80% 乙醇的提取效果优于其它溶剂,本实验采用 80% 乙醇为提取溶剂。

3.2 提取方法的考察 通过对超声、加热回流提取和索氏提取三种方法的比较,发现加热回流提取和索氏提取两种方法均能提取完全,但是索氏提取时间相对较长,操作繁琐,因此本实验采用加热回流提取方法。

3.3 提取溶剂用量的考察 本实验以 25、50、75 mL 的 80% 乙醇进行提取,结果表明,50 mL 的溶剂用量即可使药材提取完全。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. (一部). 北京: 化工出版社, 2005.
- [2] Oinonen P P, Jokela J K, Hatakka A I, et al. Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis* [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(6): 429-434.
- [3] Fernández S, Wasowski C, Paladini A C, et al. Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis* [J]. *Pharmacol., Biochem. Behav.*, 2004, 77(2): 399-404.

(收稿日期: 2009-09-10 责任编辑: 曹征)

《江西中医药》征订启事

《江西中医药》创刊于 1951 年,是新中国创办最早的中医药杂志,也是第一批进入中文核心期刊的中国医药类核心期刊,并被多家知名权威检索期刊及数据库确定为固定信息源。五十多年来,《江西中医药》发表了数以万计的优秀论文,一大批中医药学者就是从这里走向成功、走向成名的。21 世纪,《江西中医药》迎来了更大的发展机遇,2002 年评为华东地区优秀期刊、江西省优秀期刊,2004 年评为全国高校优秀期刊。2003 年成功改为月刊,赢得了更多读者的青睐。本着“面向临床,面向基层,坚持传统,注重实用”的办刊思路,我们进一步充实内容,调整栏目,使文章更具可读性、实用性、信息性,以满足读者的需要。

《江西中医药》(ISSN 0411-9584, CN 36-1095/R)为月刊,国内外公开发行。国内邮发代号为 44-5,国外代号为 BM1012。每期定价:4.80 元。