

HPLC 测定肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素的含量

王振旺, 龙平, 张春红*, 邬国栋, 张娜, 李旻辉
(包头医学院, 内蒙古 包头 014060)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法测定肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素的含量。色谱柱为 Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为水(A)和甲醇(B)梯度洗脱, 流速 1.5 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 237 nm。结果: 獐牙菜苦苷对照品在 0.27 ~ 5.40 mg 与峰面积呈现良好的线性关系 ($r=0.9998$), 加样回收率为 98.49%、RSD 1.06% ($n=9$); 当药黄素对照品在 0.165 ~ 3.3 mg 与峰面积呈现良好的线性关系 ($r=0.9996$), 加样回收率为 97.35%、RSD 1.45% ($n=9$)。结论: 该方法简单、快捷、准确、重复性好, 可用于肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱; 肋柱花; 獐牙菜苦苷; 当药黄素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0106-03

[doi] 10.11653/syfyj2013100106

Determination of Swertiamain and Swertisin in Herba *Lomalogonium rotatum* by HPLC

WANG Zhen-wang, LONG Ping, ZHANG Chun-hong*, WU Guo-dong, ZHANG Na, LI Min-hui
(Baotou Medical College, Baotou 014060, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of swertiamain and swertisin in herba *Lomalogonium rotatum*. **Method:** Swertiamain and swertisin were simultaneously analyzed using HPLC accompanied with Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column and UV detector. Methanol-water was chosen as the mobile phase with gradient elution. The wavelength was set at 237 nm, while the flow rate was set at 1.5 mL·min⁻¹. **Result:** Swertiamain and swertisin were linear within the range of 0.27-5.40 mg ($r=0.9998$), 0.165-3.3 mg ($r=0.9996$), respectively. Meanwhile, the average recoveries were 98.49% (RSD 1.06%) and 97.35% (RSD 1.45%), respectively. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and possesses good reproducibility. It can be used for the quality control of *Lomalogonium rotatum*.

[Key words] HPLC; *Lomalogonium rotatum*; swertiamain; swertisin

肋柱花分布在我国内蒙、西藏、云南、四川、青海、甘肃、新疆等地^[1], 是蒙医常用药材, 收载于《中国卫生部药品标准·蒙药分册》(1998年版), 蒙药名为特木尔-地格达, 具有平息“协日”, 清热, 健胃, 愈伤功能, 临床用于“协日”热, 瘟疫, 流感, 伤寒, 中暑头痛, 肝胆热, 黄疸, 胃协日, 伤热等症^[2-3]。肋柱花主要含有黄酮类、三萜类、环烯醚萜及裂环烯醚萜等化合物。其中獐牙菜苦苷和当药黄素等成分具有不同程度的利胆、保肝生物活性, 为肋柱花的主要活性成分之一^[4-5]。经文献调研^[6-10], 目前尚未有同时测定肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素的方法, 因此本

[收稿日期] 20121119(607)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060372); 教育部科学技术研究重点项目(211033); 内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目(NJZY 11189); “十二五”科技部项目支撑计划(2012BAI28B002)

[第一作者] 王振旺, 硕士, 讲师, 从事蒙药化学成分分离与鉴定研究, Tel: 0472-7166712, E-mail: wzwwangwang@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 张春红, 博士, 副教授, 从事中蒙药活性成分研究, Tel: 0472-7167795, E-mail: zchlhh@126.com

文研究建立了高效液相色谱法测定肋柱花中的獐牙菜苦苷和当药黄素,为进一步完善和提高肋柱花的药品质量,有效地定量控制和保证药品质量提供参考。

1 材料

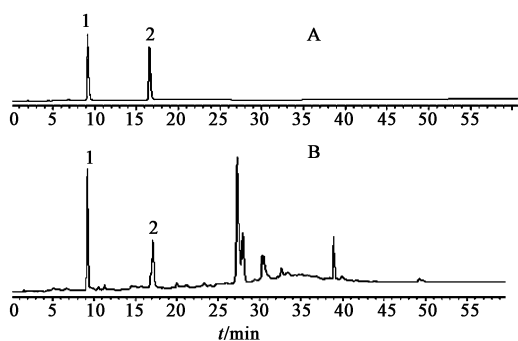
岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,配置 LC-20ATvp 输液泵、SPD-M20Avp 检测器、SCL-20ATvp 色谱工作站(日本岛津),FA1004 型电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司)。

獐牙菜苦苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0785-200203),当药黄素对照品(上海融禾医药科技发展公司,批号 080710),甲醇为色谱甲醇(天津市西华特种试剂厂),其余试剂均为分析纯。

肋柱花采自内蒙古锡林郭勒盟东乌旗,经内蒙古科技大学包头医学院李旻辉教授鉴定为龙胆科植物肋柱花 *Lomatogonium rotatum* (L.) Fries ex Nym 的干燥全草^[11-13]。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Phenomenex OOG-4252-EO 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0 ~ 15 min, 20% ~ 50% B; 15 ~ 35 min, 50% ~ 100% B; 36 ~ 60 min, 100% B),流速 1.5 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,检测波长 237 nm。以上色谱条件时,肋柱花中獐牙菜苦苷与当药黄素分离度良好,见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 獐牙菜苦苷; 2. 异荛菪素

图 1 肋柱花的高效液相色谱

2.2 对照品储备液的制备 精密称取獐牙菜苦苷 5.4 mg、当药黄素 3.3 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,备用(每 1 mL 中含獐牙菜苦苷 0.54 mg、含当药黄素 0.33 mg)。

2.3 供试品溶液的制备 取肋柱花药材粉末约

0.2 g,精密称定,置 50 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇溶液 25 mL,密塞,称定质量,超声提取 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,过微孔滤膜,备用。

2.4 线性关系及工作范围的考察 精密吸取对照品储备液 0.5, 1.0, 2, 4, 6, 8, 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积(A)。并以峰面积(Y)对獐牙菜苦苷和当药黄素的进样量(X)进行线性回归,得回归方程:

獐牙菜苦苷的线性方程 $Y = 1\ 095\ 589 X - 79\ 947$ ($r = 0.999\ 8$)。

当药黄素的线性方程 $Y = 1\ 577\ 466 X - 80\ 927$ ($r = 0.999\ 6$)。

结果表明,獐牙菜苦苷对照品进样量在 0.27 ~ 5.40 μg 与峰面积呈良好的线性关系;当药黄素对照品进样量在 0.165 ~ 3.3 μg,与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL,在上述色谱条件下依法重复进样 5 次,记录色谱图,测定其峰面积,结果獐牙菜苦苷的 RSD 1.89%,当药黄素的 RSD 1.87%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 同一份供试品溶液,分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积,结果獐牙菜苦苷的 RSD 1.19%,当药黄素的 RSD 1.28%,表明供试品溶液在 24 h 内测定稳定性良好。

2.7 重复性试验 称取同一批样品约 0.2 mg,共 5 份,精密称定,照上述 2.3 项下方法制备溶液 5 份,按含量测定方法,分别精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,测定其峰面积,并计算含量。结果獐牙菜苦苷的平均含量为 3.59%,RSD 1.90%,当药黄素的平均含量为 0.41%,RSD 2.10%。表明该含量测定方法具有良好的重复性。

2.8 回收率试验 取已知含量的肋柱花粉末,精密称定 0.2 g,分别加入一定量的獐牙菜苦苷对照品和当药黄素对照品,照上述 2.3 项下方法制得供试品溶液,在规定色谱条件下,按含量测定方法进行测定,并按下列公式计算回收率,结果见表 1,2。

2.9 样品的测定 按 2.3 项下方法制备供试品溶液,精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,进样,照上述色谱条件分离、测定,以外标法计算样品含量,结果见表 3。

表 1 獐牙菜苦苷的回收率

No.	取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.050 0	1.795	0.917	2.676	98.67		
2	0.049 9	1.791	0.917	2.684	99.10		
3	0.050 3	1.806	0.917	2.626	96.45		
4	0.050 5	1.812	1.834	3.593	98.56		
5	0.050 8	1.824	1.834	3.580	97.87	98.49	1.06
6	0.050 3	1.806	1.834	3.644	100.12		
7	0.050 7	1.813	2.620	4.410	99.48		
8	0.050 5	1.812	2.620	4.358	98.34		
9	0.050 4	1.809	2.620	4.333	97.83		

表 2 当药黄素的回收率

No.	取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.050 0	0.205	0.112	0.310	97.65		
2	0.049 9	0.205	0.112	0.305	96.21		
3	0.050 3	0.206	0.112	0.304	95.57		
4	0.050 5	0.207	0.224	0.423	98.17		
5	0.050 8	0.208	0.224	0.430	99.49	97.35	1.45
6	0.050 3	0.206	0.224	0.416	96.69		
7	0.050 7	0.208	0.320	0.513	97.15		
8	0.050 5	0.207	0.320	0.505	95.83		
9	0.050 4	0.207	0.320	0.524	99.38		

表 3 肋柱花中獐牙菜苦苷和当药黄素的含量 %

No.	獐牙菜苦苷	当药黄素
1	3.67	0.42
2	3.62	0.40
3	3.63	0.41

3 讨论

3.1 检测波长的测定 采用 SPD-M20A 检测器,取獐牙菜苦苷对照品溶液和当药黄素对照品溶液在 190~400 nm 进行光谱扫描,结果獐牙菜苦苷在 237,276 nm 有吸收峰,其中以 237 nm 处出现峰锐尖,为最大吸收。当药黄素在 213,270,338 nm 处为 3 个吸收峰的最大吸收波长,在 338 nm 处当药黄素峰形锐尖,但此处獐牙菜苦苷吸收为 0,在 213,270 nm 处当药黄素吸收峰均峰形较缓,峰顶峰谷吸收值相差幅度较小,即在 210~275 nm 当药黄素吸收值差别不大,因此综合獐牙菜苦苷和当药黄素两者的吸收情况,选定 237 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择 考察了流动相甲醇-水、乙腈-0.1% 磷酸的等度和梯度洗脱效果,结果甲醇-水的梯度洗脱效果好,故选择了甲醇-水梯度洗脱。

3.3 提取时间的确定 比较了不同超声时间对供试品溶液中獐牙菜苦苷和当药黄素含量的影响,结果表明超声提取 30 min 即可。

[参考文献]

- [1] 赵一之. 内蒙古肋柱花属植物分类及其地理分布研究[J]. 植物研究, 2004, 24(1): 7.
- [2] 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]. 1998:15.
- [3] 王秀梅, 巴根那, 白明纲. 高效液相色谱法测定肋柱花中獐牙菜苦苷的含量[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然版, 2007, 22(3): 320.
- [4] 吴柒柱, 包巴特, 白海花. 蒙药肋柱花的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(6): 366.
- [5] 李玉林, 丁晨旭, 王洪伦, 等. 辐状肋柱花的苷类成分[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 197.
- [6] 刘乐乐, 罗素琴, 周炎勋, 等. 蒙药地格达-4 散剂无机化学成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(5): 3.
- [7] 宋萍, 吴启勋, 俞学荣. RP-HPLC 法测定辐状肋柱花獐牙菜苦苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 1013.
- [8] 贾凌云, 孙启时, 路金才. 蒙药肋柱花中 3 种药用成分的含量测定[C]. 第九届全国药用植物及植物药学术研讨会. 2010: 59.
- [9] 贾凌云, 李倩, 袁久志, 等. 蒙药肋柱花化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(9): 704.
- [10] 贾凌云, 袁久志, 孙启时. 蒙药肋柱花化学成分的分离与鉴定(2)[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(4): 260.
- [11] 白翠兰, 巴根那, 王秀兰. 蒙药肋柱花的鉴别研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2002, 57: 236.
- [12] 胡伊力格其, 巴根那, 王青虎. 四种地格达类蒙药材的鉴别研究[J]. 内蒙古民族大学学报, 2007, 22(3): 328.
- [13] 崔占虎, 李旻辉, 袁庆军, 等. 基于 DNA 条形码技术鉴别 4 种龙胆科“地格达”类蒙药基原植物[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 72.

[责任编辑 顾雪竹]