

HPLC 测定舞草中木犀草素的含量

潘力¹, 廖厚知^{2*}

(1. 广西柳州市红十字医院药剂科, 广西 柳州 545000;
2. 广西汇科药物研究所, 南宁 530007)

[摘要] 目的: 建立舞草中木犀草素的含量测定方法。方法: 采用 VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。以甲醇-0.3% 磷酸溶液 (60:40) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 350 nm。结果: 舞草中的木犀草素含量测定方法在 0.0407 2 ~ 0.6515 2 进样量与峰面积的线性关系良好 ($r=0.999\ 8$); 平均回收率 100.35%, RSD 0.80%。结论: 本方法准确、灵敏、重复性好, 可用于舞草的质量控制。

[关键词] 舞草; 木犀草素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0145-03

Determination of Luteolin in *Codariocalyx motorius* by HPLC

PAN Li¹, LIAO Hou-zhi^{2*}

(1. Department of Pharmacy, Red Cross Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545000, China;
2. Guangxi Huike Institute of Materia Medica, Nanning 530007, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination method of luteolin content in *Codariocalyx motorius*.

Method: VP-ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used, the mobile phase was methanol-0.3%

[收稿日期] 20120330(272)

[第一作者] 潘力, 硕士, 主管药师, 从事药事管理及药物分析方面研究, Tel: 13977280552, E-mail: hhyyjyk@163.com

[通讯作者] * 廖厚知, 工程师, Tel: 0771-3217835, E-mail: Liaohouzhi258@sina.com

甲基-5-亚甲基-8-(1-甲基乙基)-1,6-环癸二烯 (10.41%), 石竹烯 (8.73%) 的含量为最高; 采自黎平县东风林场的凹叶厚朴鉴定出 19 种化合物, 占挥发油总量的 94.9%, 以 β-桉叶醇 (32.44%), [1s-顺]-4,7-二甲基-1-甲基乙基-萜 (14.35%), (1S)-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙基) 萜 (8.27%), 愈创醇 (8.04%) 的含量为最高。

4 讨论

不同地区的挥发油成分主要是萜类化合物, 其次还含有少量的烷烃、芳香烃、酯类和脂肪酸。萜类化合物具有多种生物活性, 可作为某些中药的有效成分^[2]。石竹烯是一类双环倍半萜类化合物, 倍半萜类在治疗人类重大疾病, 如肿瘤、心脑血管疾病、艾滋病方面具有良好的应用价值^[3]。萜烯类化合物挥发油对真菌和昆虫的抑制活性起主要作用^[4]。

各地区凹叶厚朴的挥发油在种类和相对含量方

面都存在一定的差异性。通过对贵州省不同地区的凹叶厚朴挥发油的成分及其含量比较分析, 为贵州省凹叶厚朴的药用研发提供了一定的参考和依据, 有利于更好更充分的对中药材凹叶厚朴资源加以利用。

[参考文献]

- [1] 李玲玲. 厚朴挥发油化学成分研究[J]. 中草药, 2001, 32(8): 686.
- [2] 孙卫军, 林观祥. 浙江产吴茱萸果实挥发油化学成分研究[J]. 医药导报, 2010, 29(11): 1432.
- [3] 林珊, 曾建伟, 邹秀红, 等. 泥胡菜挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 福建中医学院学报, 2010, 20(4): 27.
- [4] 杨晓东, 肖珊美, 韩铮, 等. 杨梅果实挥发油的气-质联用分析[J]. 果树学报, 2008, 25(2): 244.

[责任编辑 顾雪竹]

phosphonic acid solution (60:40) with the flow rate as $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was set at 350 nm. **Result:** The linear relation of hyperin was good in the range from 0.040 72 to 0.651 52 μg . The average recovery was 100.35%, RSD was 0.80%. **Conclusion:** The method established is accurate, sensitive and good in reproducibility. It can be applied to the quality control of *C. motorius*.

[Key words] *Codariocalyx motorius*; luteolin; HPLC

舞草又名无风独摇草、独摇草、接骨草、壮阳草、风流草。分布于我国台湾、福建、广西、四川、贵州、云南等地。具有活血祛风,安神镇静之功。主治跌打损伤、骨折、风痹瘙痒、小儿疳积、风湿腰痛、神经衰弱、精神病、狂犬咬伤等^[1]。全草的主要化学成分为甾醇类、黄酮类、糖苷类等化合物^[2]。木犀草素为舞草的有效成分之一,未见舞草含量测定的相关报道。本研究建立了木犀草素的含量测定方法,旨在为舞草的质量标准制定提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津制作所),检测器 SPD-M10 Avp 紫外检测器(日本岛津制作所),十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱,VP-ODS 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),保护柱 YWG C₁₈ (4.6 mm \times 10 mm, 5 μm), AB265-S 型分析天平(梅特勒-托利多), UV-2450 型分光光度计(日本岛津制作所)。

1.2 试药 木犀草素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111520-200201),乙腈为色谱纯,盐酸、磷酸均为分析纯。舞草药材由广西汇科药物研究所廖厚知工程师分别采集广西南宁(C1)、百色(C2)、河池(C3)、柳州(C4)、梧州(C5)、贺州(C6)、崇左(C7),并鉴定为为豆科植物舞草 *Codariocalyx motorius* (Houtt.) Ohashi 的全草。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 VP-ODS 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.3% 磷酸溶液(60:40),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为室温,检测器检测波长 350 nm,木犀草素的理论塔板数 $\geq 3\ 500$,该条件下木犀草素与其他成分的分度度 ≥ 1.5 。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取木犀草素对照品 10.18 mg 至 50 mL 量瓶中,加入甲醇溶液适量,制成对照品溶液(每 1 mL 含 80 μg)。

2.2.2 供试品溶液制备 取本品粉末(过 3 号筛)约 2.0 g,精密称定,精密加入 $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸-甲醇溶液 50 mL,称定质量,水浴加热回流 2 h,放冷,再称定质量,用 $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸-甲醇溶液补足减

失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 系统适用性试验 分别精密吸取对照品及供试品溶液各 20 μL ,注入色谱仪中,按 2.1 条件进行测定。如图 1~2 所示,在此条件下样品中木犀草素的理论塔板数为 3 804,分离度为 2.9,与其他成分分离良好。

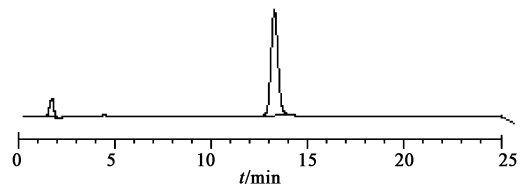


图 1 对照品溶液色谱

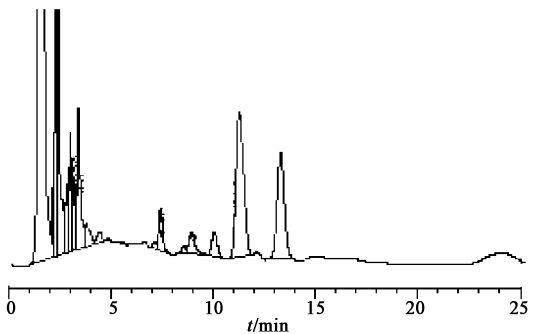


图 2 供试品溶液色谱

2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 8, 16 mL, 分别置于 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按 2.1 色谱条件,分别进样 20 μL 测定,以峰面积积分(Y)对木犀草素进样量(X)进行回归分析,得回归方程 $Y = 5\ 069\ 445X - 848$ ($r = 0.999\ 8$)。说明木犀草素进样量在 0.040 72 ~ 0.651 52 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 量取木犀草素对照品溶液适量,按 2.1 色谱条件,进行 5 次重复进样,测定色谱峰面积,结果 RSD 0.53%。

2.6 稳定性试验 精密称取同一批样品(C1),按 2.2 方法制备样品溶液,分别于 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 h 时间间隔测定色谱峰面积,结果 RSD 0.93%,表明样品溶液制备后 72 h 内稳定。

2.7 重复性试验 称取同一批号样品(C1)6 份,按 2.2 方法制备样品溶液,进样分析,结果平均含量

为 $0.1826 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 2.03%。

2.8 加样回收率试验 精密称定 6 份同一批已知准确含量 ($0.1826 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 的样品 (C1), 1.0 g /份, 分别置于 100 mL 锥形瓶中, 精密加入 1 mL 木犀草素对照品溶液 ($0.2036 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 挥去甲醇, 按照 **2.2** 方法制备样品溶液, 再分别注入色谱仪, 按 **2.1** 色谱条件进行木犀草素峰面积的测定, 计算回收率。见表 1。

表 1 木犀草素回收率试验考察

取样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1.025	0.1872	0.2036	0.3925	100.83	100.35	0.80
1.035	0.1890	0.2036	0.3906	99.02		
1.011	0.1846	0.2036	0.3897	100.74		
1.075	0.1963	0.2036	0.3995	99.80		
1.007	0.1839	0.2036	0.3899	101.18		
1.026	0.1873	0.2036	0.3920	100.54		

2.9 样品含量测定 取舞草 7 批, 按上述方法测定, 不同产地的舞草中木犀草素的质量分数在 $0.013\% \sim 0.024\%$, 平均含量为 0.018% , 见表 2。

表 2 样品含量测定

No.	取样量/g	含量/%	平均值/%
C1	2.019	0.018	0.018
C2	2.015	0.013	
C3	2.008	0.024	
C4	2.017	0.017	
C5	2.025	0.022	
C6	2.014	0.019	
C7	2.036	0.015	

3 讨论

目前对于木犀草素的提取主要包括以下几种方法, 但各有利弊: ① 乙醇提取再水解法^[3], 该法试验操作略显繁琐, 提取不够完全; ② 甲醇索氏回流提取^[4], 该法提取物杂质成分较多, 提取时间较长; ③ 甲醇酸液回流水解法^[5], 该法可达到水解提取目的, 对水解回流时间 (1, 2, 3 h) 进行考察, 结果显示,

提取 1 h 未提取完全, 2 h 与 3 h 基本无差异。为节省试验时间, 故选择 2 h 作为水解回流时间。

陈腾飞等^[3]采用乙腈-0.1% 磷酸 (25:75) 为流动相, 胡蓉等^[4]采用甲醇-水-磷酸 (55:45:0.4) 为流动相, 王美多等^[6]采用甲醇-0.4% 磷酸溶液 (50:50) 为流动相, 本实验考察不同比例的甲醇-磷酸溶液系统和乙腈-磷酸溶液系统, 结果以甲醇-0.3% 磷酸溶液 (60:40) 系统洗脱的效果最优, 木犀草素峰理论板数较为理想, 能较好地分离与测定木犀草素的含量。

不同批次药材由于产地、采收时间、贮存时间等因素的影响, 有效成分的含量有较大差异, 因此医院药剂科须建立统一而规范的药材检测和管理体系^[8]。

综上所述, 采用甲醇-0.3% 磷酸溶液 (60:40) 将舞草中木犀草苷进行水解, 以测定其中木犀草素的含量, 该法的准确性及灵敏度高、重复性好, 可用于舞草的质量控制。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 4 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 448.
- [2] 王勇, 王英, 王国才, 等. 舞草的化学成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 357.
- [3] 陈腾飞, 萧伟, 尚强, 等. HPLC 法测定不同产地墨旱莲药材中木犀草素含量[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(2): 158.
- [4] 张继红, 罗泽宇, 陶能国, 等. 葛根素提取及其抑菌实验研究[J]. 激光生物学报, 2010, 19(4): 507.
- [5] 胡蓉, 姚闽, 李玉云, 等. HPLC 法测定裸花紫珠药材中木犀草素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(3): 271.
- [6] 王美多, 赵飞, 黄志平, 等. 高效液相色谱法测定北刘寄奴中木犀草素的含量[J]. 中南药学, 2010, 8(3): 208.
- [7] 崔兰冲, 李小琴, 韩莹, 等. HPLC 测定野菊花中蒙花苷与木犀草素的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 33.

[责任编辑 顾雪竹]