

不同提取溶剂对独一味药材中木犀草素含量的影响

徐梦雪^{1*}, 王贤英^{2#}(1.重庆医科大学附属儿童医院, 重庆 400014; 2.重庆市中药研究院, 重庆 400065)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0391-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.33

摘要 目的:研究不同提取溶剂对独一味药材中木犀草素含量的影响。方法:采用高效液相色谱法测定木犀草素的含量,分别考察水、50%乙醇、70%乙醇回流提取方法制得的供试品溶液中木犀草素的含量。色谱柱为 Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50, V/V),检测波长为 350 nm,柱温为 25 ℃,进样量为 10 μl。结果:木犀草素进样量在 0.040 8~0.204 0 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 8$);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD≤1.12%;平均加样回收率为 98.68%,RSD 为 0.84%($n=6$);水、50%乙醇、70%乙醇回流提取制备的供试品溶液中木犀草素的含量分别为 3.93、4.75、5.93 mg/g。结论:不同提取溶剂制备的供试品溶液中独一味药材中木犀草素的含量不同,从高到低依次为 70%乙醇>50%乙醇>水。本方法操作简便、结果可靠,可用于独一味药材中木犀草素的含量测定。

关键词 独一味;木犀草素;高效液相色谱法;提取溶剂

Effects of Different Extraction Solvents on the Content of Luteolin in *Lamiophlomis rotata*

XU Meng-xue¹, WANG Xian-ying²(1.Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China; 2.Chongqing Academy of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of different extraction solvents on the content of luteolin in *Lamiophlomis rotata*. METHODS: The content of luteolin in *L. rotata* was determined by HPLC. The contents of luteolin in test samples prepared by water extraction, 50% alcohol extraction and 70% alcohol extraction were all determined. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.4% phosphoric acid (50:50, V/V). The detection wavelength was set at 350 nm and detection temperature was 25 ℃, the sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of luteolin were 0.040 8-0.204 0 μg($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 98.68%(RSD=0.84%, $n=6$). RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 1.12%. The contents of luteolin in test samples prepared by water extraction, 50% alcohol extraction and 70% alcohol extraction were 3.93 mg/g, 4.75 mg/g and 5.93 mg/g, respectively. CONCLUSIONS: The contents of luteolin in test samples prepared by different solvents are different, in descending order as 70% alcohol extraction>50% alcohol extraction>water extraction. The method is simple and reliable. It can be used for the content determination of *L. rotata*.

KEYWORDS *Lamiophlomis rotata*; Luteolin; HPLC; Extraction solvent

独一味,藏语称“大巴”,学名 *Lamicphlmis rotata*(Benth.) Kudo,系唇形科植物,无茎多年生草本;最早载于藏医名著《四部医典》《月王药诊》,是藏、纳西等民族常用草药;以根及根状茎入药,具有止血、镇痛消肿、活血化瘀、增强免疫力等功效^[1];临床主要用于治疗软组织损伤、关节扭伤、骨折的镇痛,效果显著。研究表明,独一味含有黄酮、苯乙醇苷、环烯醚萜苷、木犀草素等成分^[2-4]。目前,上市的相关产品有独一味片、丸和胶囊,其质量标准已刊载于 2005 年版《中国药典》(一部),但质量标准中的制备方法较简单。为此,笔者参照独一味胶囊的制备工艺^[5],结合独一味药材提取方法的相关研究文献^[6-9],对不同提取方法的提取效率及木犀草素含量进行了研究,以为充分利用独一味药材资源提供参考^[10]。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010A 型高效液相色谱(HPLC)仪,包括 Shimadzu

*药师。研究方向:医院药学。电话:023-63630729。E-mail: 443522053@qq.com

#通信作者:副主任中药师。研究方向:药品质量检验及质量标准。电话:023-89029097。E-mail: wangxianying_315@163.com

CLA-SS-VP V6.12 SP4 工作站(日本岛津公司);SK250LH 超声仪(上海科导超声仪器有限公司);AB265-S 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

木犀草素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111520-200504);乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为超纯水,其余试剂为分析纯。

1.3 药材

独一味药材(批号:1046-2012001)购自成都市荷花池药材市场,经重庆市中药研究院生药鉴定研究所苏舒副研究员鉴定为独一味 *L. rotata*(Benth.) Kudo。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 水煎煮提取法^[11-13] 取独一味药材 2 kg,共 3 份,分别加 10 倍量水,煎煮 3 次,每次 1 h,合并煎液,滤过。滤液浓缩至相对密度为 1.30(60 ℃)的浸膏,于 80 ℃以下减压干燥,粉碎得干膏粉,即得样 1、样 2、样 3。

2.1.2 50%乙醇回流提取法 取独一味药材 2 kg,共 3 份,分别加 10 倍量 50%乙醇,回流提取 3 次,每次 1 h,合并煎液,滤

过。减压回收乙醇,滤液浓缩至相对密度为1.30(60℃)的浸膏,在80℃以下减压干燥,粉碎得干膏粉,即得样4、样5、样6。
2.1.3 70%乙醇回流提取法^[14] 取独一味药材2 kg,共3份,分别加10倍量70%乙醇,回流提取3次,每次1 h,合并煎液,滤过。减压回收乙醇,滤液浓缩至相对密度为1.30(60℃)的浸膏,在80℃以下减压干燥,粉碎得干膏粉,即得样7、样8、样9。

2.2 木犀草素的含量及提取率测定

2.2.1 色谱条件及系统适用性试验^[5] 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50, V/V); 检测波长: 350 nm; 柱温: 25℃; 进样量: 10 μl。在此色谱条件下理论板数按木犀草素峰计算应不低于3 000, 分离度为2.5。高效液相色谱见图1。

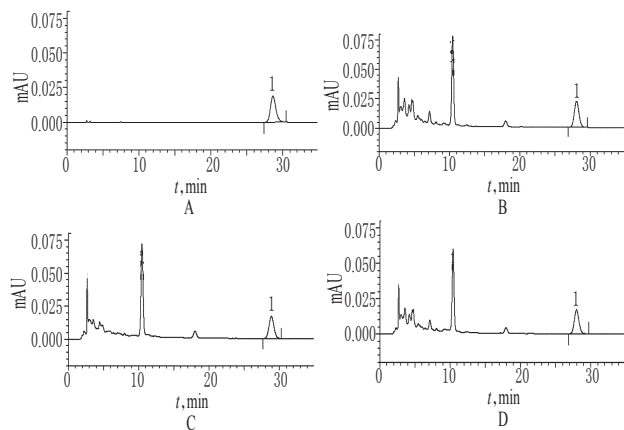


图1 高效液相色谱图

A.水提取;B.50%乙醇提取;C.70%乙醇提取;1.木犀草素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.water extraction;B.50% alcohol extraction;C.70% alcohol extraction;1.luteolin

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取木犀草素对照品适量,加甲醇制成每1 ml含20 μg的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取不同提取溶剂回流提取的干膏粉0.5 g,精密称定,置于50 ml具塞锥形瓶中,精密加入2.5 mol/L盐酸甲醇溶液25 ml,密塞,称定质量,用2.5 mol/L盐酸甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液2 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系考察^[15-17] 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液(0.020 4 mg/ml)2、4、6、8、10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=425\,910x-251.12$ ($r=0.999\,8$)。结果表明,木犀草素的进样量在0.040 8~0.204 0 μg范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下木犀草素对照品溶液10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件重复进样5次,记录峰面积。结果,木犀草素峰面积的RSD为0.21%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液10 μl,分别于0、2、4、6、8 h时,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,木犀草素峰面积的RSD为0.76%,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 配制同一质量浓度的供试品溶液6份,取

适量,分别按“2.2.1”项下色谱条件进样6次,记录峰面积。结果,木犀草素峰面积的RSD为1.12%,表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量(3.93 mg/g)的水回流提取干膏粉,共6份,每份0.5 g,精密称定,分别精密加入“2.2.2”项下对照品溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,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 tests(n=6)

取样量,g	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.500 5	1.967	1.968	3.895	97.97		
0.501 2	1.969	1.968	3.912	98.70		
0.500 6	1.967	1.968	3.923	99.39	98.68	0.84
0.502 3	1.974	1.968	3.935	99.64		
0.501 4	1.971	1.968	3.917	98.88		
0.500 8	1.968	1.968	3.886	97.47		

2.2.9 样品含量测定 分别吸取“2.2”项下对照品溶液及供试品溶液各10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量。样品含量及提取率测定结果见表2。

表2 不同提取溶剂制备的供试品溶液中木犀草素的含量及提取率测定结果(n=3)

Tab 2 The contents and transfer rate of luteolin in test samples prepared by different extraction solvents(n=3)

样品	水提取			50%乙醇提取			70%乙醇提取		
	样1	样2	样3	样4	样5	样6	样7	样8	样9
干膏量,g	647	650	648	543	545	546	485	482	480
干膏得率,%	32.35	32.50	32.40	27.15	27.25	27.30	24.25	24.10	24.00
木犀草素,mg	3.91	3.93	3.95	4.77	4.75	4.72	5.93	5.95	5.92
提取率,%	44.16	44.60	44.35	45.22	45.19	44.99	50.21	50.06	49.61
平均提取率,%		44.37			45.13			49.96	

3 讨论

本研究通过对不同提取溶剂回流提取独一味中木犀草素含量比较,结果表明提取率由小到大依次为水、50%乙醇、70%乙醇;而干膏得率由大到小依次为水、50%乙醇、70%乙醇。

因水煎煮提取含有大量的水溶性杂质,故干膏得率大,但木犀草素含量低;而70%乙醇回流提取去除了部分水溶性杂质,干膏得率小,但木犀草素含量高。

综上所述,不同提取溶剂制备的供试品溶液中独一味药材中木犀草素的含量不同,从高到低依次为70%乙醇>50%乙醇>水。本方法操作简便、结果可靠,可用于独一味药材中木犀草素的含量测定。

参考文献

[1] 昆明植物研究所.云南植物志[M].北京:科学出版社,1977:619-621.
[2] 曾阳,陈学军,陈振宁.藏药独一味的研究进展[J].中草药,2001,32(12):1 141.
[3] 易进海,钟焜昌,罗泽渊,等.独一味根化学成分研究:Ⅲ[J].中草药,1990,21(12):2.
[4] 孙俊.独一味化学成分的初步研究[J].云南中医中药杂志,2011,32(9):64.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2005年版.广东:化学工业出版社,2005:184、541.

石墨炉原子吸收光谱法测定棕榈酸中的镍残留量

陈 阳*, 彭 茗, 杨永健[#](上海市食品药品检验所, 上海 201203)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0393-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.34

摘 要 目的:建立测定棕榈酸中催化剂镍的残留量的新方法。方法:采用石墨炉原子吸收光谱法,将供试品经微波消解法处理后测定。采用高温分解涂层石墨管,检测波长为232.0 nm,狭缝宽度为0.2 nm,空心阴极灯工作电流强度为10 mA,扣背景方式为塞曼效应,测量模式为峰高,进样量为20 μ l。结果:镍的质量浓度在0~20 ng/ml范围内与吸光度呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$);精密度、重复性试验的 $RSD\leq 2.3\%$;平均加样回收率为104.5%, $RSD=2.2\%$ ($n=3$);检测限、定量限分别为0.06、0.2 μ g/g。结论:该方法灵敏度高、准确、快捷,适用于棕榈酸中镍的残留量测定。

关键词 石墨炉原子吸收光谱法;棕榈酸;镍;微波消解法

Determination of Nickel in Palmitic Acid by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

CHEN Yang, PENG Ming, YANG Yong-jian (Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a new method for the determination of nickel in palmitic acid. METHODS: Graphite furnace atomic absorption spectrometry was adopted, and microwave digestion was used for sample pretreatment. Coated graphite tube was decomposed with high temperature. The detection wavelength was set at 232.0 nm, the slit width was 0.2 nm, and current intensity of hollow cathode lamp was 10 mA. The mode of background correction was Zeeman effect, and peak height was used as measurement pattern. The sample volume was 20 μ l. RESULTS: The linear range of nickel was 0-20 ng/ml($r=0.999\ 7$) with an average recovery of 104.5% ($RSD=2.2\%$, $n=3$); $RSDs$ of precision and reproducibility test were $\leq 2.3\%$. The limits of detection and quantification were 0.06 and 0.2 μ g/g. CONCLUSIONS: The method is specific, sensitive, accurate and rapid, and can be used for the determination of nickel in palmitic acid.

KEYWORDS Graphite furnace atomic absorption spectrometry; Palmitic acid; Nickel; Microwave digestion

棕榈酸是一种饱和高级脂肪酸,又称软脂酸、十六烷酸,存在于棕榈油、日本蜡、中国植物油及梓树籽油中。作为一种常用药用辅料,棕榈酸主要用作表面活性剂,例如制备非离子型的聚氧乙烯山梨糖醇酐单棕榈酸酯和山梨糖醇酐单棕榈酸酯;此外,棕榈酸还可作为香料、食品消泡剂以及棕榈酸异丙酯、甲酯、丁酯等多种化工产品的原料^[1]。

棕榈酸的制法主要有直接提取、水解分离和化学合成等。其中化学合成是以油酸为原料,在350 $^{\circ}$ C下碱熔,使双键发生异构,与羧基处于共轭位置,进一步催化氧化,可分解获得;合成过程中使用雷尼镍金属催化剂^[1]。若其成品中的镍残留量过高,会对人体的重要脏器产生毒性,引起呼吸系统刺激症状、皮肤损害等,同时增加癌症发生的危险^[2]。

- [6] 唐坤,蔡应繁,李标,等.独一味提取方法的优化研究[J].中药材,2008,31(5):756.
- [7] 王超,王永,宋剑,等.正交试验优选独一味总黄酮的提取工艺[J].中国药业,2011,20(22):57.
- [8] 周国勤,王淑君,李迅,等.独一味根部药材总黄酮提取工艺的研究[J].现代中西医结合杂志,2009,18(22):2 699.
- [9] 谷华.独一味颗粒剂提取工艺的优化[J].医药论坛杂志,2009,30(17):54.
- [10] 孙辉,蒋舜媛,冯成强,等.独一味 *Lamiophlomis rotata* 野生资源现状与存在的问题[J].中国中药杂志,2012,37(22):3 500.
- [11] 刘晔玮,赵亮,邸多隆,等.藏药独一味提取工艺研究[J].

- 中国中药杂志,2007,32(15):1 594.
- [12] 赖先荣,向永臣,苏醒.藏药独一味提取工艺优化研究[J].中国实用医药,2008,3(33):11.
- [13] 丁新爱.独一味提取工艺研究[J].河南中医学院学报,2006,21(2):40.
- [14] 邱建国,张泉龙,尉丽力,等.独一味不同提取物工业化提取分离纯化工艺研究[J].中草药,2013,44(15):2 067.
- [15] 李瑞麟.HPLC法测定独一味分散片中木犀草素的含量[J].安徽医药,2010,14(9):1 029.
- [16] 王晓燕.高效液相色谱法测定独一味颗粒中木犀草素、芦丁的含量[J].中医研究,2012,25(5):69.
- [17] 李毅,舒波,张康宁.不同厂家生产的独一味制剂中木犀草素含量的测定[J].成都医学院学报,2012,7(1):44.

* 主管药师。研究方向:药物分析。电话:021-38839900。
E-mail:ycmirror@163.com

[#] 通信作者:主任药师,博士。研究方向:药物分析。电话:021-38839900。E-mail:yongjianyang@163.com

(收稿日期:2014-06-16 修回日期:2014-08-07)

(编辑:孙 冰)