

微波协助提取在中药饮片含量测定中的应用(6) ——微波法与药典法测定野菊花中蒙花苷含量比较

方婧¹,杨洪军¹,付梅红^{1*},安琪²,张贝贝¹,王祝举¹,杨岚¹,张东¹

(1. 中国中医科学院中药研究所,北京 100700; 2. 首都医科大学,北京 100069)

〔摘要〕 目的:建立微波协助提取法提取野菊花中有效成分蒙花苷含量测定方法,比较微波协助提取法与药典法提取蒙花苷优势。方法:采用 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸(26:23:1),检测波长 334 nm,柱温 30 ℃,流速 1 mL·min⁻¹。结果:微波提取时间 15 min,提取温度 100 ℃,提取溶剂 50% 乙醇。蒙花苷在 0.04~1.2 μg 呈良好线性关系($r=0.999\ 9$),平均回收率 100.13% ($n=6$)。结论:微波提取法较药典法提取蒙花苷更简便快速、准确,为一种符合环保绿色理念的含量测定方法,可用于检测野菊花饮片中蒙花苷含量。

〔关键词〕 微波提取;野菊花;蒙花苷;含量测定

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)24-0094-03

Determination of Microwave-Assisted Extraction of Chinese Cut Crude Drugs (6) Comparison of the Determination of Linarin from *Chrysanthemum indicum* Between Microwave-Assisted Extraction and Chinese Pharmacopeia Method

FANG Jing¹, YANG Hong-jun¹, FU Mei-hong^{1*}, AN Qi², ZHANG Bei-bei¹,
WANG Zhu-ju¹, YANG Lan¹, ZHANG Dong¹

(1. Institute of Chinses Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine,
Beijing 100700, China; 2. Capital Medical University, Beijing 100069, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To establish a microwave-assisted extraction method for the extraction of the linarin from *Chrysanthemum indicum*. Comparison of the determination of linarin from *C. indicum* between microwave-assisted extraction and Chinese pharmacopeia method was made. **Method:** Dikma Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm) was used. The mobile phase couisted of methanol-water-acetic acid (26:23:1). The temperature of column was kept at 30 ℃. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wave-length was at 334 nm. **Result:** Microwave extractive time was 15 min, the temperature was 100 ℃, the extraction solvent was 50% ethanol. The calibration curve was in good linearity within the range from 0.04 to 1.2 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 100.13% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, rapid, as well as precise and reliable, and can be used for the determination of linarin from *C. indicum*.

〔Key words〕 microwave-assisted extraction; *Chrysanthemum indicum*; linarin; determination

野菊花为菊科植物野菊的干燥头状花序。其功能主治为清热解毒,泻火平肝。用于疔疮痈肿,目赤肿痛,头痛眩晕^[1]。《中国药典》(2010 年版一部)

野菊花项下,供试品溶液的制备方法为取野菊花粉末加甲醇,加热回流 3 h。阮洪生^[2]等考察了超声-微波协同萃取方法对野菊花中总黄酮和绿原酸提取

〔收稿日期〕 20110510(012)

〔基金项目〕 “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003);“国家科技支撑计划子课题”(2006BAI09B07-02)

〔第一作者〕 方婧,技师,从事中药化学成分与质量评价研究,Tel:010-64062692

〔通讯作者〕 *付梅红,研究员,从事中药化学与质量评价研究,Tel:010-64062692

效果的影响,张丽珍等^[3]对微波辅助提取野菊花总黄酮的工艺条件及参数进行优化,认为微波辅助萃取法具有短时、提取效率高等优点。蒙花苷为野菊花中重要的黄酮类化合物,研究表明具有抗炎、降压、心脏保护等作用^[4],目前尚无微波用于野菊花有效成分蒙花苷含量测定的文献报道。我们在完成蒙花苷微波提取方法学基础上,建立了蒙花苷微波提取含量测定法,并对产地江苏、广州、湖北等5个不同产地野菊花饮片的微波提取法与药典法提取蒙花苷的含量进行了比较。

1 仪器与试剂

微波消解仪购自上海新仪微波化学科技有限公司(型号MDS-6),岛津高效液相色谱仪(LC-20A),蒙花苷购自中国药品生物制品检定所(批号111528-200606),甲醇为色谱纯(Fisher),乙腈为色谱纯(Fisher),水为重蒸馏水。

野菊花饮片购自江苏、广州、内蒙、湖北、永安堂,采购日期2010年9~12月,经本所何希荣鉴定为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序。

2 方法与结果

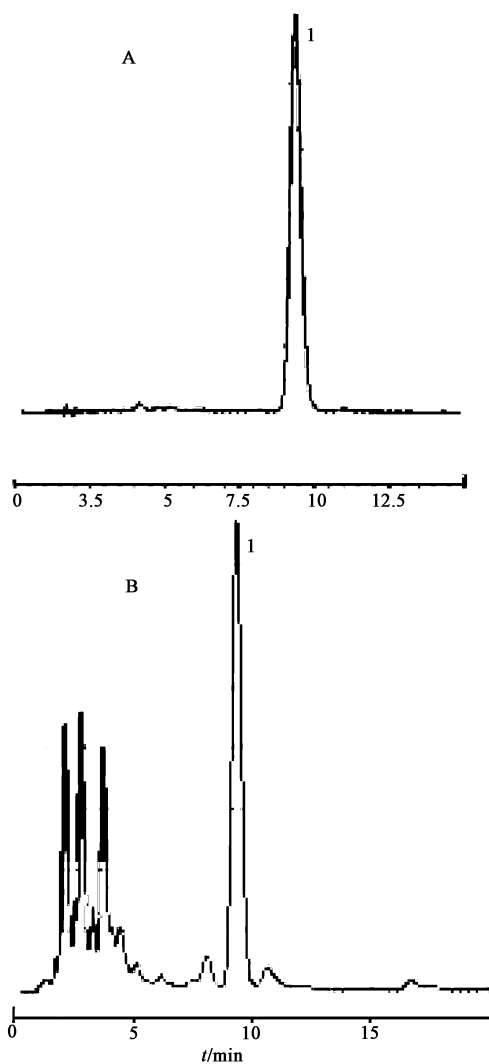
2.1 供试品溶液的制备 取野菊花饮片样品,粉碎(过60目筛),精密称定约0.05 g,置微波提取罐中,精密加入50%乙醇20 mL,称定质量,微波协助萃取100℃,保温15 min,取出,冷却至室温,再称定质量,用50%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2 对照品溶液的制备 取蒙花苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含40 μg的溶液,摇匀,即得。

2.3 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸(26:23:1),检测波长334 nm,柱温30℃,流速1 mL·min⁻¹。见图1。

2.4 检测限及定量限 取对照品储备液逐级稀释后,按2.3色谱条件进行测定。按3倍信噪比计算(S/N=3)蒙花苷的检测限为12 ng,按10倍信噪比计算(S/N=10)蒙花苷的定量限为40 ng。

2.5 线性关系考察 精密称取蒙花苷对照品适量,分别配成0.04,0.08,0.2,0.4,0.8,1.2 g·L⁻¹的对照品溶液,按2.3色谱条件进行测定,得回归方程 $Y=2\,143\,706.542X+1\,872.602$ ($r=0.999\,9$),表明蒙花苷在0.04~1.2 μg与峰面积呈良好的线性关系。



A. 对照品; B. 饮片; 1. 蒙花苷

图1 野菊花饮片 HPLC

2.6 精密度考察 精密吸取同一对照品溶液10 μL,在2.3色谱条件下进行测定,测得蒙花苷峰面积RSD 0.24% ($n=6$),表明精密度良好。

2.7 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液10 μL,分别间隔0,2,4,6,8,24 h,在2.3色谱条件下进行测定,测得蒙花苷峰面积RSD 0.29%,表明在24 h内样品稳定性良好。

2.8 重复性考察 取同一批次本品粉末(过60目筛)6份,精密称定,分别按2.1供试品溶液的制备项下制备,分别精密吸取10 μL注入液相色谱仪,按2.3色谱条件进行测定并计算蒙花苷含量,RSD 2.20% ($n=6$),表明此法重复性良好。

2.9 回收率试验 采用加样回收法,取已知含量的野菊花饮片粉末约0.025 g,精密称定6份,分别精密加入约0.5 mg的蒙花苷对照品,再按2.1供试品溶液的制备项下制备,按2.3色谱条件进行测定,测

得平均回收率为 100. 13% ($n = 6$), RSD 1. 72%, 结果见表 1。

表 1 野菊花中菊花苷加样回收率结果					
称样量	样品中量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	/mg	/mg	/%	/%	/%
0. 024 96	0. 471 0	0. 929 7	97. 39	100. 13	1. 72
0. 025 10	0. 473 6	0. 948 0	100. 72		
0. 025 09	0. 473 4	0. 951 6	101. 53		
0. 025 07	0. 473 1	0. 946 7	100. 55		
0. 024 99	0. 471 6	0. 951 3	101. 85		
0. 025 01	0. 471 9	0. 937 0	98. 74		
注:加入量均为 0. 471 mg。					

2. 10 样品测定 取购自江苏、广州、内蒙、湖北、永安堂的野菊花样品,按 **2. 1** 供试品溶液的制备项下制备,按 **2. 3** 色谱条件进行测定,计算蒙花苷的含量,见表 2。

表 2 微波提取野菊花中蒙花苷的含量($n = 2$)		%
样品来源	蒙花苷	
江苏	0. 11	
广州	1. 13	
内蒙	0. 17	
湖北	1. 42	
永安堂	1. 10	
同仁堂	1. 89	

3 微波提取法与药典法蒙花苷含量比较

分别取购自江苏、广州、内蒙、湖北、永安堂的野菊花样品(粉碎过 60 目筛)0. 25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,称定质量,加热回流 3 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。按 **2. 3** 色谱条件进行测定,计算蒙花苷的含量,结果见表 3。

从测定结果可知,微波提取法比药典中提取法大幅度缩短了提取时间,由加热回流 3 h 缩短为微波提取 15 min。微波法比药典法提取时间缩短了 91. 7%。

表 3 药典法提取野菊花中蒙花苷的含量($n = 2$)		%
样品来源	蒙花苷	
江苏	0. 10	
广州	1. 04	
内蒙	0. 16	
湖北	1. 40	
永安堂	1. 04	
同仁堂	1. 86	

4 讨论

考察了以 30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、90% 乙醇、乙醇、50% 甲醇为提取溶剂提取野菊花饮片,测定蒙花苷含量,测得 50% 乙醇提取率最高,因此选定提取溶剂为 50% 乙醇。

考察了 60,80,100,120 ℃ 的不同微波提取温度提取野菊花饮片,测定蒙花苷含量,测得在提取温度为 100 ℃ 时已提取完全,因此选定微波提取温度为 100 ℃。

考察了加热至 100 ℃ 后分别保温 0,10,15,20 min 的不同保温时间,测定蒙花苷含量,测得在保温 15 min 时提取率最高,因此选定保温时间为 15 min。

微波提取法与药典提取法提取蒙花苷提取率相近,而微波提取所用时间只有 15 min,小于药典中加热回流 3 h,而提取率相近。因此微波提取法用于野菊花饮片中蒙花苷的含量测定更为快速、简便而稳定,也符合低碳、环保绿色理念。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:295.

[2] 阮洪生,曹玲. 超声-微波协同萃取野菊花的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学,2010,38 (8):4026,4033.

[3] 张丽珍,周之荣. 微波辅助提取野菊花中总黄酮的工艺研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(4):823.

[4] 吴钉红,杨立伟,苏薇薇. 野菊花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2004,27(2):142.

[责任编辑 顾雪竹]