

# 高效液相色谱法测定星状凤毛菊中木樨草素的含量

于瑞涛<sup>1,2</sup>, 文怀秀<sup>1</sup>, 张怀刚<sup>1</sup>, 梅丽娟<sup>1</sup>, 邵 赞<sup>1</sup>, 陶燕铎<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘 要:** 采用动态微波提取技术和反相高效液相色谱法测定了星状凤毛菊中木樨草素的含量。色谱条件: 色谱柱 Phenomenex Fusion-Rp column (250mm ×4.6mm i d, 4μm); 流动相: 甲醇 - 0.2% 磷酸水溶液 (50:50, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 360 nm; 柱温: 30。标准曲线方程为  $y = 2014.93x + 83.2$  ( $r = 0.9997$ ), 木樨草素对照品进样量在 1.2 ~ 6.0 μg 范围内线性关系良好。结果表明, 木樨草素在星状凤毛菊中的含量为 81.69 μg/g。

**关键词:** 星状凤毛菊; 高效液相色谱; 木樨草素

星状凤毛菊花, 又名星状雪兔子, 为菊科凤毛菊属植物星状凤毛菊 (*Saussurea stella* Maxim) 的干燥全草, 分布于青海、甘肃、四川、西藏等地。生于海拔 2450 ~ 4300 米的阴湿草地、河滩草甸。全草入药治中毒性热症及骨折、风湿性筋骨痛<sup>[1]</sup>。其化学成分已有研究报道, 包括黄酮类、黄酮苷类、木脂素类、矿物质元素等多种成分<sup>[2,3]</sup>。木樨草素为星状凤毛菊中的有效成分。有关木樨草素在星状凤毛菊中的含量分析尚未见报道。本文采用动态微波提取法对星状凤毛菊中的木樨草素进行提取, 采用反相高效液相色谱法对木樨草素的含量进行了测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Agilent1200 高效液相色谱仪, 包括 G1311A 四元输液泵, G1316A 柱温箱, G1329A 自动进样器, G1315A 二级管阵列 (DAD) 检测器, Agilent1200 色谱工作站。HH-6 数显恒温水浴锅, MG08S-2B 微波实验仪, N-1000D 旋转蒸发仪。

木樨草素对照品 (0080-9705, 中国药品生物制品检定所)。甲醇为色谱纯, 水为电阻值 18.25 M 的超纯水, 其余试剂均为分析纯。试验中所用星状凤毛菊于 2009 年 8 月采自青海省祁连冰沟风景区 3260 米处。由中国科学院西北高原生物所梅丽娟工程师鉴定为菊科凤毛菊属星状凤毛菊。

### 1.2 色谱条件

色谱柱 Phenomenex Fusion-Rp column (250mm ×4.6mm i d, 4μm); 流动相: 甲醇 - 0.2% 磷酸水溶液 (50:50, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL; 检测波长: 360 nm; 柱温: 25。

### 1.3 溶液的制备

1.3.1 对照品溶液 精密称取木樨草素对照品 6.0mg 至上 10 mL 容量瓶中, 配制成浓度为 0.6mg · mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

1.3.2 供试品溶液 星状凤毛菊全草粉碎。分别精密称取 3.0g 各 3 份, 置平底烧瓶中, 分别精密加入甲醇 60 mL, 微波功率 390w 回流, 提取 20 min, 趁热过滤, 定容于 100 mL 容量瓶中。摇匀, 取适量用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 即得。

## 2 实验结果

### 2.1 线性关系考察

自动进样器分别精密吸取 0.6mg · mL<sup>-1</sup> 木樨草素对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μL 自动进样, 记录峰面积与保留时间, 以木樨草素对照品进样量  $x$  (μg) 为横坐标, 峰面积  $y$  为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明, 木樨草素对照品进样量在 1.2 ~ 6.0 μg 范围内线性关系良好, 其回归方程为:  $y = 2014.93x + 83.2$  ( $r = 0.9997$ )。

### 2.2 稳定性试验

\* 基金项目: 科技部国家科技支撑计划 2007BAI45B00

作者简介: 于瑞涛 (1963 - ), 研究员; E-mail: yuruitao521@163.com,

自动进样器依次对同一供试品溶液进样,在 4, 6, 7, 11, 14 h 后分别进样 10 $\mu$ L, 其峰面积积分值 RSD (n=5) 为 3.57%, 说明供试品溶液在 15h 内是稳定的。

### 2.3 精密度试验

分别准确吸取同一木樨草素对照品溶液 10 $\mu$ L, 进样 5 次, 峰面积积分值 RSD (n=5) 为 1.48%。

### 2.4 重复性试验

取星状凤毛菊 3 份, 分别按 3.2 项下测定方法测定, 记录峰面积积分值, RSD 为 1.86%。

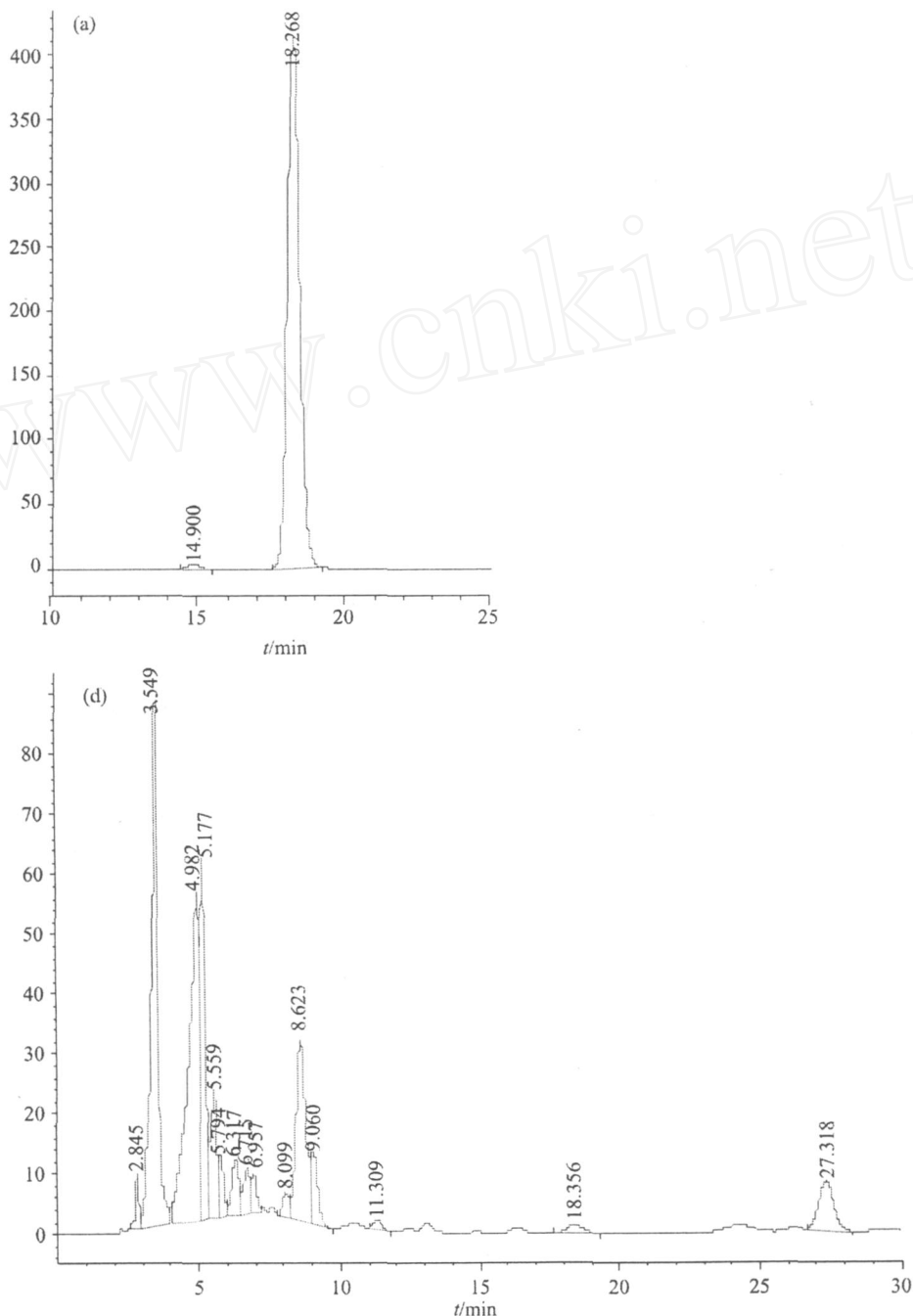


图 1 A. 木樨草素对照品图 (a) 与星状凤毛菊色谱图 (b)

### 3 分析与讨论

木樨草素属于黄酮类化合物,其纯品为黄色结晶状粉末,能溶于乙醇、乙醚,微溶于水,溶于碱溶液,正常条件下稳定,分子式为  $C_{15}H_{10}O_6$ <sup>[4]</sup>。木樨草素具有多种药理作用,周咏梅<sup>[4]</sup>等对木樨草素的药理作用做了比较系统全面的总结。首先木樨草素具有抗肿瘤作用,可以抑制肿瘤细胞增殖作用和诱导癌细胞凋亡,木樨草素可以通过抗增殖和诱导凋亡抑制恶性肿瘤细胞的生长,在体外对人肝癌细胞、结肠癌细胞、宫颈癌细胞、黑色素瘤细胞、卵巢腺癌细胞、人中枢神经肿瘤细胞、胃癌细胞、腹水癌细胞、白血病细胞、平滑肌瘤细胞、上皮细胞癌细胞等 10 多种癌细胞有抑制增殖作用,还可诱导一些癌细胞发生凋亡<sup>[5-7]</sup>。已有研究证明木樨草素具有明显的抗炎作用,是活性很强大的肥大细胞释放抑制剂,它可以抑制肥大细胞脱颗粒和组织胺、PGs 样物质及细胞因子等炎性介质的释放<sup>[8]</sup>。木樨草素对食品中常见供试四种菌金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、啤酒酵母菌和大肠杆菌具有高效抗菌活性,且随浓度增加而增强<sup>[8]</sup>;同时对多种病毒(如单纯疱疹病毒、脊髓灰质炎病毒、HM-1 病毒、柯萨奇 B3 病毒、猪传染性胃肠炎病毒等)有不同程度的抑制作用<sup>[9]</sup>。据报道木樨草还具有抗氧化活性,以及免疫恢复作用。

本文用动态微波的提取方法,使用高效液相色谱

法在吸收波长为 360nm 测定星状凤毛菊中木樨草素的含量。实验结果表明,星状凤毛菊中木樨草素的含量为 81.69 $\mu$ g/g。木樨草素对照品色谱图及星状凤毛菊色谱图如图 1(A,B)所示。本方法方便快捷,测量准确,重复性好,为星状凤毛菊的进一步开发和利用奠定一定的理论基础。

### 参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所 青海经济植物志. 青海,西宁:青海人民出版社 1987: 646
- [2] 贾忠建,巨勇,朱子清. 兰州大学学报(自然科学版), 1989, 25(3): 64
- [3] 沈进,梁健,彭树林等. 天然产物研究与开发. 2004, 16(5): 391
- [4] 周咏梅,刘保林. 木樨草素的药理作用研究进展. 中华实用中西医杂志 2007, (20) (4): 337
- [5] Kotanidou A, Xagorari A, Bagili E, *et al* Am J Respir Crit Care Med 2002 165(6): 818
- [6] Li YC, Hung CF, Yeh Fr, *et al* Food Chem Toxicol, 2001, 39(7): 641
- [7] Hsu HF, Houg JY, Chang CL, *et al* Agric Food Chem, 2005, 53(15): 6117
- [8] Huang YT, Lee LT, Lee PP, *et al* Anticancer Res, 2005, 25(3B): 2017
- [9] 汪秋安. 江苏食品保鲜剂及其应用, 2000, (3): 36
- [10] Tewtrakul S, Miyashiro H, Nakamura N, *et al* Phytother Res, 2003, 17(3): 232