

· 基础研究 ·

HPLC 测定北京妙峰山玫瑰花中芦丁的含量[△]董一蕾¹, 许啸¹, 张旭¹, 高同雨², 刘勇¹, 王加利¹, 姬瑞芳¹, 全庆华¹, 武雅娟², 刘永刚^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 北京市门头沟区国家生态修复科技综合示范基地, 北京 102300)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法测定北京妙峰山玫瑰花中芦丁的含量。方法: 超声提取法, 色谱柱为 Agilent zorbax SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长为 310 nm, 柱温为 25 ℃, 流动相为 0.2% 冰醋酸-乙腈 (90:10), 流速为 0.8 mL·min⁻¹。结果: 北京妙峰山玫瑰花中芦丁的含量为 1.254 9 mg·g⁻¹。结论: 该方法简便、快速、准确、重复性好, 适用于玫瑰花中芦丁的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱; 芦丁; 玫瑰花; 妙峰山

Determination of Content of Rutin in Rose Flowers of Miaofeng Mountain in Beijing by HPLC

DONG Yilei¹, XU Xiao¹, ZHANG Xu¹, GAO Tongyu², LIU Yong¹, WANG Jiali¹, JI Ruifang¹,QUAN Qinghua¹, WU Yajuan², LIU Yonggang^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. The Science and Technology of Ecology Restoration State Comprehensive Model Base of Beijing Mentougou District, Beijing 102300, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of rutin in rose flowers of Miaofeng Mountain in Beijing by HPLC. **Methods:** The samples were extracted by ultrasonic, column chromatography of Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used in the study, the detection wavelength was 310 nm, the column temperature was 25 degrees, the mobile phase was 0.2% acetic acid acetonitrile (90:10), elution rate was 0.8 mL·min⁻¹. **Results:** The content of rutin in rose flowers of Miaofeng Mountain in Beijing was 1.254 9 mg·g⁻¹. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and reproducible. So it is suitable for the determination of the content of rutin in rose flowers.

[Keywords] HPLC; rutin; rose flowers; Miaofeng Mountain

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.011

玫瑰 *Rosa rugosa* 是蔷薇科植物, 小灌木, 高 1~2 m, 其花朵中含有多种生物活性成分, 是民间常用的中药材, 其药理作用有理气调经、镇静安神、和血养血等^[1-3]。北京妙峰山的玫瑰花以其花朵饱满、颜色艳丽、香气浓郁而独特, 在国内外享有较高名誉, 妙峰山玫瑰产于北京市门头沟区的妙峰山, 此处海拔高、气候凉爽、昼夜温差大, 自然条件得天独厚, 具有 500 多年的玫瑰花栽培历史, 玫瑰花已成为北京特色植物资源^[4,6]。

研究表明, 玫瑰花中主要活性成分为黄酮, 黄酮类成分是具有开发前景的天然抗氧化剂, 但是目前对玫瑰花中黄酮类具体成分的研究报道较少^[7],

本文以芦丁为指标, 建立了用高效液相色谱法测定妙峰山玫瑰花中芦丁含量的方法, 为北京市特色农业——妙峰山玫瑰的发展提供了参考, 也为玫瑰药物的深度开发提供了实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 材料与试剂

北京市门头沟区妙峰山玫瑰种植地干燥玫瑰花花瓣, 经北京中医药大学教授刘勇鉴定为玫瑰花 *Rosa rugosa* Thunb.; 乙腈 (色谱纯)、冰醋酸 (色谱纯)、甲醇 (分析纯), 由北京高华伟业食品添加剂有限公司提供; 芦丁对照品 (中国食品药品检定研究

[△] [基金项目] 北京市科委课题 (Z151100001415009); 北京中医药大学大学生教育课题 (BJGJ1633)

* [通信作者] 刘永刚, 副教授, 研究方向: 中药物质基础研究及质量标准; E-mail: liuyg0228@163.com

院), 纯度 >98%; 去离子水。

1.2 仪器

日本岛津公司 20A 系列高效液相色谱仪; LC solution 工作站; KQ-100 型超声波清洗仪。

2 样品测定

2.1 色谱条件

Agilent zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 柱温: 25 ℃, 流动相为 0.2% 冰醋酸-乙腈 (90:10), 检测波长为 310 nm, 流速为 0.8 mL · min⁻¹, 进样量为 10 μL。

2.2 供试品溶液的制备

取妙峰山干燥玫瑰花瓣 1 g, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 超声处理 40 min, 提取芦丁, 摇匀, 过滤, 取滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。色谱图见图 1。

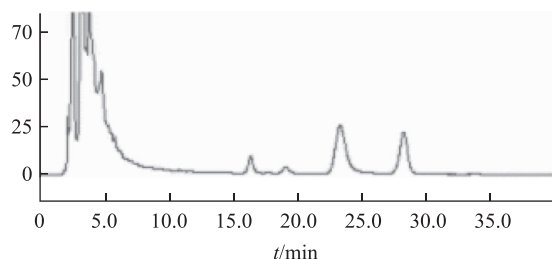


图1 玫瑰花 HPLC 图

2.3 对照品溶液的制备

精密称取 2.030 mg 芦丁对照品, 置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 得到 0.203 mg · mL⁻¹ 对照品溶液。色谱图见图 2。

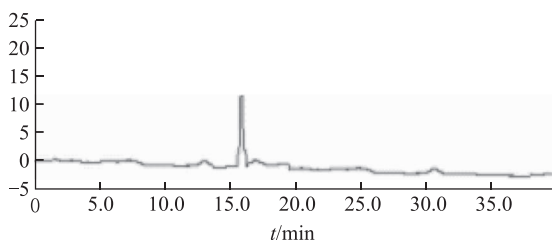


图2 芦丁 HPLC 图

2.4 线性关系考察

在 2.1 色谱条件下依次进样 1、2、5、10、20 μL 芦丁对照品溶液。以芦丁峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 进行回归计算, 得芦丁回归方程, $Y = 1\,001\,639X - 58\,394$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明, 在给定的范围内,

芦丁线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品, 在 2.1 色谱条件下重复进样 5 次, 每次 10 μL, 计算得到芦丁峰面积 RSD = 0.89%, 说明精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取妙峰山玫瑰花 5 份, 按 2.2 项下方法制备供试品, 按 2.1 项下色谱条件依次进行测定, 计算得到芦丁平均含量的 RSD = 2.25%, 说明本实验重复性良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品, 分别在 0、2、4、6、8 h 进样 10 μL, 测定芦丁峰面积, 结果得到芦丁峰面积的 RSD = 2.30%, 说明本实验稳定性较好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的与重复性试验同一批的玫瑰花 9 份, 每份 0.50 g, 精密称定, 加入芦丁对照品适量, 按照 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件进样测定, 以外标法计算芦丁的量, 见表 1。

表1 芦丁加样回收率试验结果

取样量/ g	样品中含 量/mg	对照品加 入量/mg	测得量/ mg	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.508 5	0.638 1	0.480 0	1.108 8	98.07	97.33	2.13
0.509 3	0.639 1	0.480 0	1.104 9	97.03		
0.502 7	0.630 8	0.480 0	1.088 5	95.35		
0.503 0	0.631 2	0.600 0	1.231 7	100.09		
0.501 8	0.629 7	0.600 0	1.197 4	94.63		
0.506 9	0.636 1	0.600 0	1.206 4	95.05		
0.509 6	0.639 5	0.720 0	1.346 3	98.17		
0.501 4	0.629 2	0.720 0	1.351 4	100.30		
0.502 5	0.630 6	0.720 0	1.331 0	97.28		

2.9 样品测定结果

取妙峰山干燥玫瑰花花瓣 3 批, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样, 以外标法计算含量, 结果 3 批样品中的芦丁含量分别为 1.25、1.23、1.26 mg · g⁻¹。

3 结论

3.1 检测波长的选择

本实验选择 310 nm 作为检测波长, 在该波长下

色谱峰对称、干扰少。

3.2 芦丁提取方法的选择

对黄酮成分的提取方法有加热回流提取法^[8]和超声波提取法^[9-12],超声波提取法与加热回流提取法所得的芦丁含量相当。但采用超声波法从玫瑰花中提取芦丁,无需加热,样品处理方法简单、快速,大大缩短了提取时间。故本文采用加入甲醇超声处理40 min的提取方法。

4 讨论

文献报道,玫瑰花中主要含黄酮类成分,具有广泛的药理活性,有预防心血管疾病、防癌、抗癌、调节免疫、抗衰老、抗菌杀菌、抗病毒、抗糖尿病、吸收紫外辐射、止咳、祛痰、泻下、解痉、提高记忆力、抗过敏、活血化瘀、利胆及肝脏保护等诸多药理作用及功效^[1,7]。关于黄酮类指标性成分的筛选报道相对较少,目前,通常采用紫外分光光度计法来测定玫瑰花中黄酮的含量^[8],尚未见对妙峰山玫瑰花中黄酮含量测定的报道。故本课题选择芦丁作为指标成分,对妙峰山玫瑰花进行指标性成分控制研究,为进一步研究提供参考。

本实验通过甲醇超声波提取法提取北京妙峰山干燥玫瑰花花瓣中芦丁成分,并采用高效液相色谱法检测其中芦丁含量,具有提取完全、效率高、能耗低、所需时间短、待测成分损失少、测定结果准确等特点。方法准确可靠,重现性好,可用于玫瑰花中芦丁含量测定,具有很好的实用价值,对促进该药材的进一步推广具有重大意义。

参考文献

- [1] 陈明木,徐秋兰,刘艳芬. 玫瑰花的综合利用及其前景[J]. 中国农村科技,2003(3):38-40.
- [2] 张海云,吕传润,张静菊,等. 新品种丰花玫瑰鲜花细胞液提取率及化学成分分析初报[J]. 香料香精化妆品,2010(5):17-21.
- [3] 赵晓峰,吴荣书. 玫瑰花综合利用与其开发前景[J]. 保鲜与加工,2004,4(3):30-31.
- [4] 黄朝情,郭宝林,郝向红,等. GC-MS分析北京妙峰山玫瑰精油的化学成分[C]. 全国药用植物及植物药专业委员会. 第九届全国药用植物及植物药学术研讨会论文集,2010:192-196.
- [5] 吕晓华,张春玲,帝永周. GC/MS分析玫瑰花精油化学成分[J]. 郑州大学学报(自然科学版),1999(4):69-71.
- [6] 李斌,孟宪军,颜廷才,等. 玫瑰精油超临界CO₂萃取及GC/MS分析[J]. 沈阳农业大学学报,2007,38(2):170-173.
- [7] 朱珊,刘岱琳. 蔷薇属植物中的化学成分和药理作用研究概况[J]. 天津药学,2010,22(4):49-54.
- [8] 黄艳菲,彭镛心,丁玲,等. 荞麦和商品苦荞茶中芦丁含量的测定[J]. 现代食品科技,2012,28(9):1219-1222.
- [9] 尚远宏,刘圆,彭镛心,等. RP-HPLC测定扯根菜中槲皮素的含量[J]. 华西药学杂志,2005,20(6):559-560.
- [10] 余昕,朱烨,向芬,等. 不同采收期赶黄草中总黄酮的含量测定[J]. 泸州医学院学报,2010,33(4):370-372.
- [11] 贺晓华,许龙,杜方麓,等. 反相高效液相色谱法测定赶黄草中没食子酸的含量[J]. 中南药学,2008,6(6):717-719.
- [12] 徐珽,杨林,唐尧. 高效液相色谱法测定肝苏颗粒中槲皮素的含量[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(1):123-124.

(收稿日期 2017-02-28)