

蒙药蓝盆花HPLC指纹图谱及主要成分的含量测定研究

文花¹, 青虎¹, 刘燕², 拉喜那木吉拉², 白玉霞^{2*}

¹库伦旗蒙医医院, 内蒙古 通辽

²内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽

收稿日期: 2022年1月4日; 录用日期: 2022年2月22日; 发布日期: 2022年3月3日

摘要

目的: 对不同产地蒙药材蓝盆花(含蒙古国)进行质量比较研究, 为该药质量标准制定提供科学依据, 确保临床疗效及复方制剂用药安全提供依据。方法: 采用HPLC进行测定, 色谱柱为Welchrom-C₁₈ (4.6 mm × 300, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水, 梯度洗脱, 流速为1 mL/min, 检测波长为254 nm, 柱温40℃, 进样量为10 μl, 运用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版色谱软件对指纹图谱进行相似度评价。结果: 建立了不同产地蓝盆花的HPLC指纹图谱, 确定了22个共有峰, 指认了9个共有峰, 计算了相似度, 相似度在0.907~0.996。结论: 建立了蒙药蓝盆花药材的HPLC特征指纹图谱, 该指纹图谱测定方法精密、稳定性和重复性良好。

关键词

蒙药蓝盆花, HPLC, 指纹图谱, 质量控制, 獐芽菜苷, 异槲皮苷, 咖啡酸, 绿原酸, 木犀草苷, 芹菜素, 木犀草素, 大波斯菊苷, 异绿原酸A

HPLC Fingerprint and Determination of Main Components of Mongolian Medicine of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch

Hua Wen¹, Hu Qing¹, Yan Liu², Laxinamujila², Yuxia Bai^{2*}

¹Kulun Banner Mongolian Medicine Hospital, Tongliao Inner Mongolia

²College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao Inner Mongolia

Received: Jan. 4th, 2022; accepted: Feb. 22nd, 2022; published: Mar. 3rd, 2022

*通讯作者。

文章引用: 文花, 青虎, 刘燕, 拉喜那木吉拉, 白玉霞. 蒙药蓝盆花 HPLC 指纹图谱及主要成分的含量测定研究[J]. 中医学, 2022, 11(2): 155-166. DOI: 10.12677/tcm.2022.112027

Abstract

Objective: HPLC method was used to study the fingerprint of Mongolian medicine of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch in different collection areas, and the content of effective components was determined. The quality of Mongolian medicine blue potted flower was evaluated by the similarity evaluation system of spectral fingerprint. **Methods:** HPLC was used for determination. The chromatographic column was Welchrom-C₁₈ (4.6 mm × 300, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid water, gradient elution was adopted, the flow rate was 1 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 40°C, and the injection volume was 10 μL. **Results:** HPLC fingerprints of Mongolian medicine of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch from different habitats were established, 22 common peaks and 9 common peaks were identified, and the similarity was calculated, ranging from 0.907~0.996. **Conclusion:** The HPLC fingerprint of Mongolian medicine of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch was further established, and the established method was accurate, stable and reproducible.

Keywords

Mongolian Medicine of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch, HPLC, Fingerprints, The Quality Control, Swertia Glycoside, Isoquercitrin, Caffeic Acid, Chlorogenic Acid, Galuteolin, Apigenin, Luteolin, Apigenin 7-Glucoside, Isochlorogenic Acid A

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

蒙药蓝盆花为川续断科植物窄叶蓝盆花 *Scabiosa comosa* Fisch.ex Roem. et Schult 和华北蓝盆花 *Scabiosa tschilliensis* Grunning 的干燥花序。夏季花欲开放时, 分批采摘, 阴干[1]。蒙药名套森 - 套日莫[2], 异名为乌赫日音 - 叔鲁苏 - 乌布斯[3], 被《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册)收载。具有甘、涩、燥、钝、重、腻, 凉等性味; 清热、清“协日”之功能; 用于肺热、肝热、咽喉热等[4]。主产于内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁、河北等省区[5]。用于肝火头痛、发烧、肺热咳嗽、黄疸等病[6]。该蒙药主要含有黄酮类、三萜类等化学成分; 具有解热、抗炎、镇痛、抗氧化、降血压、抑制血小板聚集、保护肾缺血再灌注损伤、提高机体免疫功能、抑制 α-葡萄糖苷酶活性等作用[7]。

2. 仪器与试剂

2.1. 仪器

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), 色谱柱为 Welchrom C₁₈ (4.6 mm × 300, 5 μm), SQP 型 10 万分之一电子分析天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司), KQ5200DB 型超声波清洗器(江苏省昆山市淀山湖镇)。

2.2. 试剂

色谱乙腈(Fisher Scientific 公司); 色谱甲醇(Fisher Scientific 公司); 甲醇(分析纯); 乙醇(分析纯); 磷酸(分析纯)。

2.3. 药材

24 批蒙药蓝盆花样品信息见表 1, 经内蒙古民族大学蒙医药学院吴香杰教授鉴定为川续断科植物窄叶蓝盆花 *Scabiosa comosa* Fisch. ex Roem. et Schult 和华北蓝盆花 *Scabiosa tschilliensis* Grunning 的干燥花序, 绿原酸对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 17306-46-6)獐芽菜苷对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 14215-86-2), 咖啡酸对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 21967-41-9), 异槲皮苷对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 635-65-4), 芹菜素对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 520-36-5), 木犀草素对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 491-70-3), 大波斯菊苷对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 578-74-5), 木犀草苷对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 5373-11-5), 异绿原酸 A 对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 批号: 89919-62-0), 所有对照品质量分数均大于 98%。

Table 1. Information of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch

表 1. 样品采集信息

编号	产地	采集时间
Lph1	赤峰	2018.08
Lph2	兴安盟	2018.07
Lph3	呼伦贝尔	2018.07
Lph4	包头	2018.08
Lph5	巴彦淖尔	2018.07
Lph6	辽宁	2018.08
Lph7	扎旗(罕山)	2018.07
Lph8	通辽	2018.08
Lph9	河北安草堂(购买)	2018.07
Lph10	东乌旗	2018.08
Lph11	鄂尔多斯	2018.07
Lph12	通辽市科尔沁区沈铁河畔 A 区	2018.07
Lph13	库伦蒙药厂	2018.08
Lph14	种植 2	2018.07
Lph15	阿鲁科尔沁	2018.07
Lph16	霍林河	2018.07
Lph17	呼伦贝尔鄂温克旗	2018.07
Lph18	民大附属医院	2018.08
Lph19	蒙古国	2018.07
Lph20	乌兰浩特	2018.07
Lph21	蓝盆花	2018.08
Lph22	华北蓝盆花	2018.08
Lph23	种植 1	2018.07
Lph24	呼和浩特	2018.08

3. 方法与结果

3.1. 色谱条件

色谱柱: Welchrom-C₁₈ (4.6 mm × 300, 5 μm); 流动相: 乙腈(B)-0.1%磷酸水(A)梯度洗脱, 0~25 min, 5%~8% B; 25~50 min, 8%~15% B; 50~75 min, 15%~19% B; 75~100 min, 19%~24% B; 100~110 min, 24%~7% B; 110~115 min, 7%~4% B; 115~120 min, 4% B; 流速为 1.0 mL/min, 柱温 40℃, 进样量 10 μL, 检测波长 254 nm。

3.2. 溶液配制

3.2.1. 对照品溶液

精密称取绿原酸, 咖啡酸, 獐芽菜苷对照品适量置同一个 5 mL 容量瓶中加甲醇定容至刻度, 得到混合对照品溶液, 称取异槲皮苷, 木犀草苷, 异绿原酸 A 对照品适量, 置同一个 5 mL 容量瓶中加甲醇定容至刻度, 得到混合对照品溶液, 称取大波斯菊苷, 木犀草素, 芹菜素对照品适量置同一个 5 mL 容量瓶中加甲醇定容至刻度, 得到混合对照品溶液。

3.2.2. 供试品溶液

精密称取蒙古山萝卜花药材粉末 1 g 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 加 20 mL 甲醇溶解, 加热回流提取 60 min, 放冷, 过滤即得到供试品溶液。

3.3. 方法学考察

3.3.1. 精密度试验

取蓝盆花药材(Lph7), 按“2.2.2”项目下方法配制供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱峰。各共有峰相对保留时间 RSD 在 0.92%~1.22%, 相对峰面积 RSD 在 0.35%~2.54%。将同一供试品溶液连续进样 6 次得到色谱图进行相似度分析, 结果显示, 相似度大于 0.98 表示仪器精密度良好, 符合指纹图谱的技术要求。

3.3.2. 稳定性试验

取蓝盆花药材(Lph7), 按“2.2.2”项目下方法配制供试品溶液, 分别在 2、4、6、8、12、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱峰。各共有峰相对保留时间 RSD 在 0.70%~1.16%, 相对峰面积 RSD 在 0.45%~1.95%。将得到的色谱图导入分析软件进行相似度分析, 结果显示其相似度大于 0.98, 表示供试品溶液在 24 h 内稳定性良好, 符合指纹图谱的技术要求。

3.3.3. 重复性试验

取蓝盆花药材(Lph7), 按“2.2.2”项目下方法配制供试品溶液 6 份, 按“2.1”项目下色谱条件进样, 记录色谱峰。各共有峰相对保留时间 RSD 在 0.65%~1.15%, 相对峰面积 RSD 0.41%~2.36%。将得到的色谱图导入分析软件进行相似度分析, 结果显示其相似度大于 0.98, 表示方法重复性良好, 符合指纹图谱的技术要求。

3.4. 结果与分析

3.4.1. 蓝盆花指纹图谱的建立与分析

取 24 批次蓝盆花药材按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱峰, 得到 24 批次蓝盆花药材的高相液相色谱图。取混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 得到混合对照品高相液相色谱图(图 1)。将 24 批次蓝盆花药材的高相液相色谱图导入国家药典委员会中药色谱

指纹图谱相似度评价系统 A 版设 S11 为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗为 0.5, 计算 24 批药材与对照指纹图谱相似度, 得到 24 批药材在 254 nm 波长下的指纹图谱(图 2)。样品图(图 3), 确定 22 个共有峰。

1) 已确认 22 个共有峰, 通过与对照品溶液色谱图的比对, 其中确定 9 个共有峰, 分别绿原酸, 咖啡酸, 獐芽菜苷, 异槲皮苷, 木犀草苷, 异绿原酸 A, 大波斯菊苷, 芹菜素, 木犀草素。

2) 对 24 批次蓝盆花药材的高相液相色谱图进行分析, 以 11 号峰为参照峰, 以参照峰的保留时间和峰面积为 1.00, 分别计算各共有峰的相对保留时间(表 2)和相对峰面积(表 3)。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版对指纹图谱数据进行分析, 计算 24 批次蓝盆花药材与对照指纹图谱之间的相似度(表 4), 24 批蓝盆花药材与对照指纹图谱之间的相似度在 0.907~0.996, 24 批蓝盆花药材总体相似度较高, 说明本实验使用的 24 批蒙古山萝卜花药材质量较为稳定。

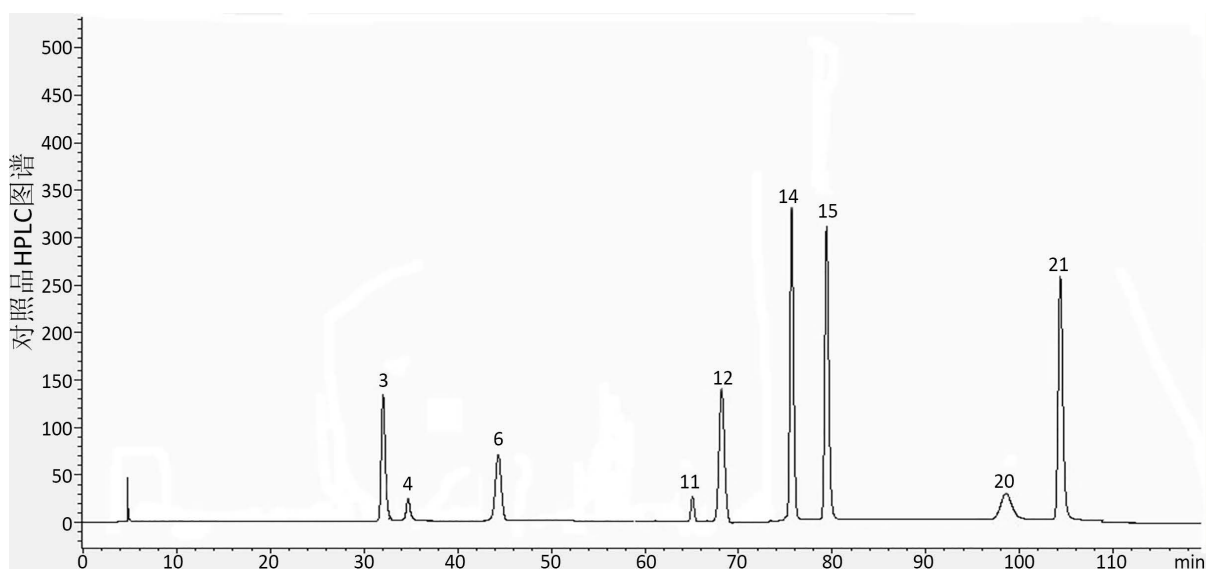


Figure 1. HPLC standard chromatographic fingerprint for nine reference substances

图 1. 对照品 HPLC 图谱

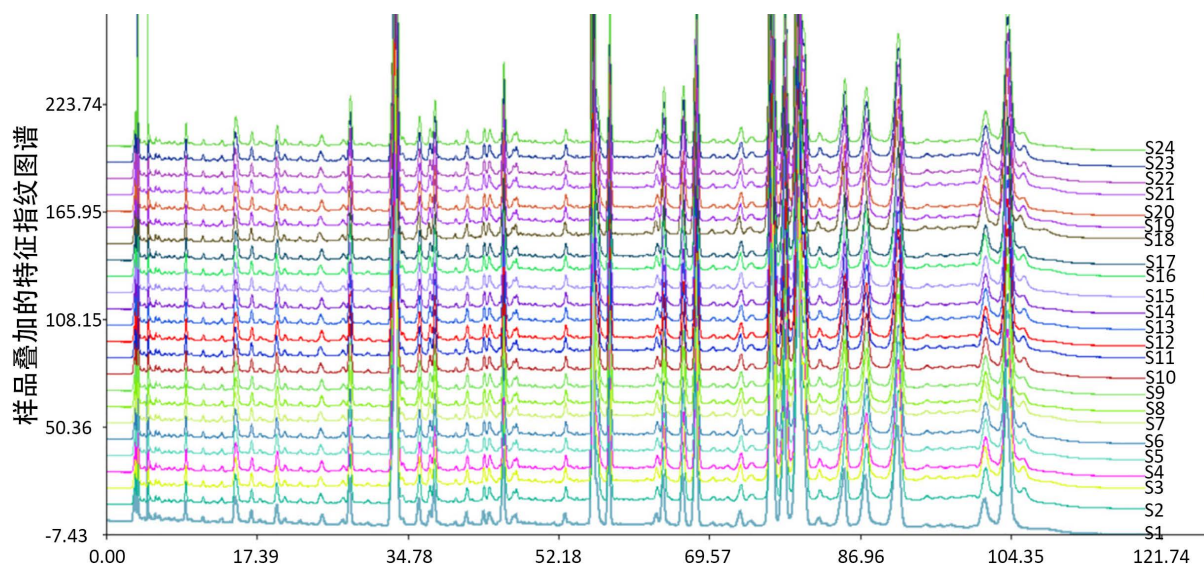
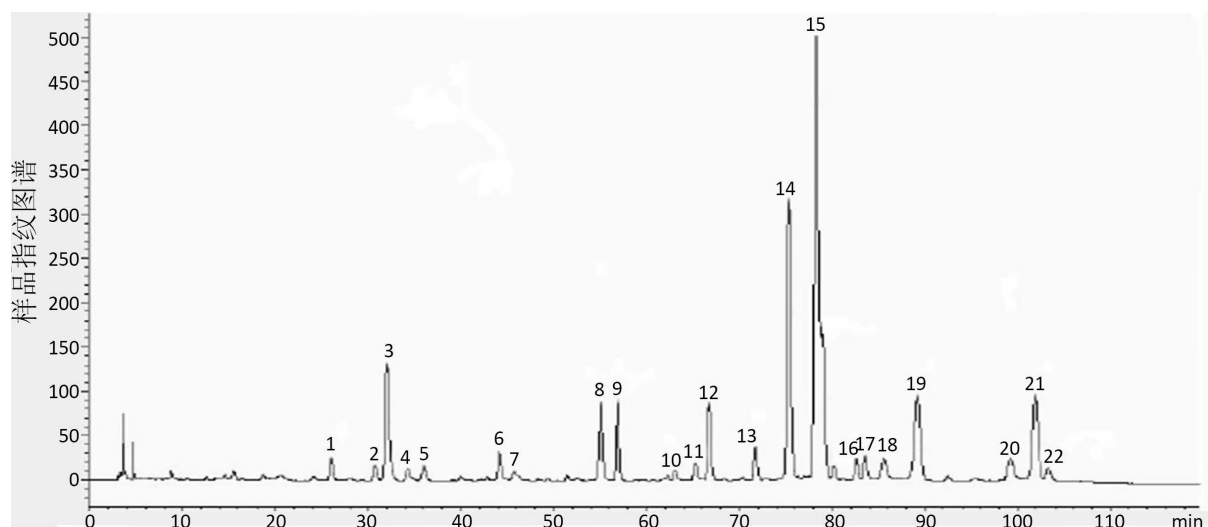


Figure 2. HPLC standard chromatographic fingerprint for 24 batches of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch

图 2. 24 批次蓝盆花药材叠加的特征指纹图谱



3-绿原酸; 4-咖啡酸; 6-獐芽菜苷; 11-异槲皮苷; 12-木犀草苷; 14-异绿原酸 A; 15-大波斯菊苷 20-芹菜素; 21-木犀草素

Figure 3. HPLC sample chromatographic fingerprint the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch

图 3. 样品指纹图谱

Table 2. Relative retention time of common peaks of 24 batches of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch

表 2. 24 批蓝盆花药材共有峰的相对保留时间

编号	相对保留时间											RSD%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
S1	1.008	1.008	1.006	1.006	1.006	1.004	0.998	1.004	1.004	1.017	0.998	0.602
S2	1.037	1.037	1.028	1.027	1.024	1.016	1.015	1.010	1.010	1.022	1.011	1.274
S3	1.004	1.007	1.007	1.008	1.006	1.005	0.998	1.004	1.004	1.022	1.004	0.670
S4	1.005	0.979	1.006	1.006	1.005	1.004	0.997	1.003	1.003	1.016	1.004	0.897
S5	0.986	0.975	0.982	1.019	0.987	0.990	0.991	1.001	0.993	1.005	0.994	1.155
S6	1.008	0.981	0.977	1.016	0.985	0.989	0.989	0.992	0.992	1.004	0.992	1.028
S7	0.984	0.986	0.982	1.021	0.990	0.993	0.994	0.995	0.995	1.008	0.997	0.919
S8	0.990	1.004	0.986	0.992	0.993	0.995	0.996	0.998	0.998	0.998	0.999	0.609
S9	1.002	1.007	1.003	1.003	0.989	1.002	1.002	1.002	1.002	1.002	1.002	0.486
S10	1.005	1.010	1.004	1.005	1.004	1.003	1.003	1.002	1.002	1.014	1.002	0.462
S11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
S12	1.003	1.005	1.005	1.004	1.004	1.003	1.003	1.003	1.003	1.016	1.004	0.459
S13	1.002	1.003	1.004	1.002	1.003	1.003	1.003	1.003	1.002	1.015	1.003	0.474
S14	1.005	1.006	1.006	1.004	1.004	1.003	0.997	1.003	1.003	1.015	1.003	0.539
S15	0.997	0.996	0.996	0.999	0.999	1.000	1.001	1.003	1.003	1.016	1.004	0.615
S16	1.003	1.008	1.008	1.008	1.008	1.005	1.005	1.005	1.005	1.018	1.007	0.703
S17	0.998	0.995	0.997	0.998	0.998	1.000	1.000	1.001	1.001	1.014	1.002	0.779
S18	1.002	1.007	1.007	1.006	1.005	1.004	1.000	1.005	1.005	1.018	1.006	0.440

Continued

S19	1.001	1.004	1.004	1.001	1.003	1.003	1.003	1.003	1.003	1.016	1.004	0.411
S20	0.999	1.000	1.001	1.000	1.001	1.001	1.001	1.002	1.001	1.013	1.002	0.449
S21	0.997	1.020	1.010	1.011	1.013	1.009	1.008	1.005	1.006	1.017	1.005	0.450
S22	0.985	0.976	1.016	0.983	0.985	0.987	1.013	0.995	0.994	1.014	1.007	1.161
S23	1.014	0.977	0.987	1.020	0.985	0.988	1.010	0.995	0.994	1.025	1.007	1.218
S24	1.010	0.983	0.990	0.985	0.985	0.988	1.011	0.994	1.010	1.014	1.005	1.224
编号	相对保留时间											RSD%
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
S1	1.005	1.005	1.006	1.003	1.006	1.009	0.985	0.995	1.005	1.006	1.005	0.602
S2	1.010	1.010	1.010	0.986	1.010	1.009	0.989	0.998	1.008	1.007	1.005	1.274
S3	1.005	1.005	1.005	1.002	1.005	1.009	0.984	0.994	1.004	1.004	1.004	0.670
S4	1.004	1.005	1.004	0.985	1.004	1.007	0.983	0.988	1.004	1.003	1.001	0.897
S5	0.992	0.993	0.993	0.991	1.024	1.008	0.994	0.984	1.004	0.996	1.003	1.155
S6	0.991	0.992	0.992	0.997	1.002	1.011	1.001	0.983	1.004	1.003	1.006	1.028
S7	0.995	0.996	0.996	0.994	0.999	0.998	1.007	0.987	1.008	0.999	1.007	0.919
S8	0.998	0.999	0.999	0.996	1.000	1.005	1.011	0.989	1.010	1.000	1.000	0.609
S9	1.002	1.002	1.002	0.999	1.001	1.002	1.011	0.990	1.001	0.998	0.992	0.486
S10	1.002	1.002	1.002	0.997	1.002	1.007	1.011	0.991	1.002	1.002	1.001	0.462
S11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
S12	1.003	1.003	1.003	1.000	1.002	0.998	0.993	0.991	1.002	1.002	1.002	0.459
S13	1.003	1.003	1.003	1.000	1.002	1.012	0.993	0.991	1.002	1.002	1.002	0.474
S14	1.003	1.002	1.003	1.002	1.003	1.016	0.993	0.991	1.005	1.003	1.003	0.539
S15	1.004	1.005	1.005	1.008	1.014	1.011	0.997	0.994	1.006	0.996	0.996	0.615
S16	1.014	1.007	1.007	1.000	1.007	1.030	0.998	0.995	1.004	1.003	1.004	0.703
S17	1.002	1.003	1.003	1.003	1.004	1.030	0.995	0.993	1.006	0.996	0.996	0.779
S18	1.006	1.006	1.006	1.001	1.006	0.999	0.997	0.995	1.004	1.004	1.004	0.440
S19	1.004	1.004	1.005	0.999	1.004	1.000	0.996	0.993	1.002	1.002	1.002	0.411
S20	1.001	1.002	1.002	1.000	1.010	1.001	0.993	0.991	1.003	1.002	1.002	0.449
S21	1.004	1.005	1.002	0.997	1.005	1.002	0.996	0.993	1.002	1.004	1.003	0.450
S22	1.017	1.008	0.992	0.997	1.009	1.006	0.998	0.990	1.002	1.002	0.999	1.161
S23	1.007	1.006	0.992	1.000	1.012	1.007	0.987	0.990	1.002	1.002	0.999	1.218
S24	1.016	1.005	0.992	1.000	1.011	0.990	0.970	0.990	1.007	1.001	1.005	1.224

Table 3. Relative peak area of common peaks of 24 batches of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch
表 3. 24 批蓝盆花药材共有峰的相对峰面积

编号	相对峰面积											RSD%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
S1	1.128	0.915	1.624	0.914	0.497	1.221	0.041	1.434	2.253	13.180	1.205	18.68
S2	0.901	1.426	1.849	1.014	1.088	0.876	0.121	1.811	3.402	4.933	1.416	84.53
S3	0.707	0.918	1.038	1.126	0.823	0.547	0.039	0.698	1.111	1.980	0.847	49.54
S4	1.950	0.906	1.153	1.484	1.000	0.505	0.287	0.630	2.175	1.488	0.646	73.61
S5	1.144	0.519	0.757	0.450	1.651	0.774	0.132	0.296	1.951	1.115	0.334	72.51
S6	1.882	1.133	1.321	1.416	0.296	0.667	0.044	0.874	0.950	1.695	0.871	74.21
S7	0.771	1.258	1.697	0.237	0.344	0.852	1.666	1.666	1.778	3.316	1.125	72.63
S8	1.306	0.892	1.156	1.128	0.491	1.551	0.772	0.772	1.007	1.414	0.873	40.41
S9	0.667	0.770	1.092	0.978	0.134	1.783	1.284	1.284	1.327	0.538	1.025	86.21
S10	1.311	0.829	0.988	0.903	0.830	0.674	0.873	0.873	0.591	1.891	0.872	67.41
S11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
S12	0.012	0.818	1.026	1.010	0.829	0.525	0.097	0.883	2.233	2.508	0.745	69.71
S13	1.234	1.225	1.425	0.781	0.469	1.768	0.134	1.060	0.225	2.452	1.105	59.81
S14	1.350	0.796	0.932	1.399	0.782	0.564	0.037	0.840	1.547	1.789	0.692	65.31
S15	0.868	1.033	1.413	0.966	0.885	0.985	0.105	1.041	1.035	2.617	1.006	36.54
S16	1.018	1.315	1.452	1.039	0.993	2.362	0.212	1.168	1.653	2.775	0.831	62.91
S17	0.680	0.702	1.492	0.718	0.552	0.635	0.043	1.811	0.781	3.047	1.033	86.21
S18	4.056	0.399	0.462	0.215	0.522	0.175	0.177	0.801	0.509	0.880	0.371	12.60
S19	1.925	0.626	0.776	1.262	0.552	1.549	0.089	0.727	1.678	2.207	0.669	34.40
S20	0.738	0.828	0.935	0.809	0.845	0.925	0.081	0.823	1.185	2.150	0.744	61.71
S21	1.562	0.995	0.857	0.298	0.838	0.718	0.127	1.381	0.118	1.602	0.672	76.31
S22	0.575	1.277	0.885	1.250	0.680	0.129	0.308	0.760	0.422	1.336	0.604	90.81
S23	0.860	0.841	0.565	0.948	0.214	0.095	2.716	0.712	0.583	0.763	0.334	83.71
S24	0.505	0.914	0.514	0.534	0.524	0.330	0.530	0.686	0.086	0.569	0.922	49.10
编号	相对峰面积											RSD%
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
S1	0.635	1.473	1.104	0.435	0.022	0.691	0.193	0.877	0.589	0.639	0.497	18.68
S2	0.756	0.969	0.975	0.400	0.011	0.848	0.735	1.202	1.280	1.349	0.551	84.53
S3	0.972	0.953	1.580	1.392	0.036	0.878	0.378	1.672	1.457	1.178	1.068	49.54
S4	0.773	0.814	1.732	0.024	0.007	0.455	1.163	1.679	3.184	2.723	0.358	73.61
S5	0.246	1.489	1.040	0.368	0.053	2.324	0.830	0.830	0.144	0.911	1.337	72.51
S6	1.143	0.301	1.320	0.453	0.027	0.800	0.050	1.120	0.113	0.193	0.207	74.21
S7	0.592	1.170	0.822	0.457	0.010	1.635	0.077	0.828	0.611	0.633	0.962	72.63

Continued

S8	0.822	1.188	1.031	0.771	0.016	1.063	0.153	0.791	0.817	0.692	1.137	40.41
S9	0.648	0.790	0.705	0.444	0.015	1.400	0.186	0.707	0.741	0.415	4.064	86.21
S10	1.166	0.882	1.301	3.945	0.011	1.198	0.087	1.439	1.897	1.675	1.405	67.41
S11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
S12	0.063	0.977	1.079	1.103	0.016	1.466	2.637	1.490	1.223	0.963	1.952	69.71
S13	1.288	1.064	0.824	0.901	0.014	0.680	0.411	0.752	0.969	0.732	0.661	59.81
S14	0.887	0.856	1.053	1.052	0.026	0.258	0.318	2.064	1.008	0.829	2.773	65.31
S15	0.997	1.315	1.046	0.809	0.027	0.670	0.355	1.046	1.767	0.890	7.937	36.54
S16	0.288	0.771	1.132	0.669	0.020	1.136	0.646	1.371	0.856	0.199	1.957	62.91
S17	0.922	0.451	0.778	0.434	0.008	0.853	0.387	0.457	0.298	0.342	2.397	86.21
S18	0.355	1.375	0.732	0.524	0.029	0.151	0.059	0.686	0.322	0.455	1.832	12.60
S19	0.687	0.548	1.158	1.385	0.017	0.284	0.128	0.913	0.453	0.592	3.135	34.40
S20	0.628	1.681	1.046	0.788	0.017	0.783	0.148	0.617	0.609	0.153	0.728	61.71
S21	0.572	0.850	0.547	0.337	0.008	0.416	0.428	1.363	0.129	0.172	0.168	76.31
S22	0.263	2.980	1.031	0.414	0.016	0.541	0.181	1.693	0.669	0.043	0.284	90.81
S23	1.069	0.790	1.183	0.370	1.600	0.171	1.772	0.057	1.000	0.111	0.168	83.71
S24	0.561	0.552	0.605	0.200	0.771	0.983	0.730	0.327	1.023	0.043	0.282	49.10

Table 4. Similarity of fingerprints among 24 batches of the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch**表 4.** 24 批蓝盆花药材与对照指纹图谱的相似度

批次	相似度	批次	相似度	批次	相似度
S1	0.965	S9	0.950	S17	0.963
S2	0.969	S10	0.949	S18	0.950
S3	0.987	S11	0.939	S19	0.979
S4	0.943	S12	0.919	S20	0.965
S5	0.996	S13	0.979	S21	0.979
S6	0.978	S14	0.972	S22	0.907
S7	0.959	S15	0.983	S23	0.939
S8	0.929	S16	0.973	S24	0.979

3.5. 含量测定

采用 HPLC 法建立了不同产地蓝盆花指纹图谱, 确定了 9 个共有峰。由图 2 可知, 24 个批次蓝盆花的色谱图较为相似, 但是还不足以评价不同产地之间质量差异。因此, 进一步建立多成分含量测定方法, 对蓝盆花指纹图谱指认的 9 个共有成分(绿原酸、咖啡酸、獐芽菜苷、异槲皮苷、木犀草苷、异绿原酸 A、大波斯菊苷、芹菜素、木犀草素)进行含量测定。

3.5.1. 方法学考察

精密吸取混合对照品溶液 2.5、5、7.5、10、12.5、15 μL 进样分析。以各对照品进样量为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得出回归方程分别为绿原酸: $y = 5978.3x - 30649$, $r = 0.9999$, 线

性范围为 2.576~15.456 μg ; 咖啡酸: $y = 4599.6x - 26538$, $r = 0.9994$, 线性范围为 0.028~0.164 μg ; 獐芽菜苷: $y = 3358.5x + 36907$, $r = 0.9991$, 线性范围为 0.171~1.027 μg ; 异槲皮苷: $y = 1509.6x - 16272$, $r = 0.9992$, 线性范围为 0.106~0.636 μg ; 木犀草苷: $y = 4413.5x + 70685$, $r = 0.9994$, 线性范围为 0.148~0.888 μg ; 异绿原酸 A: $y = 2699.2x + 80149$, $r = 0.9998$ 线性范围为 0.819~4.914 μg ; 大波斯菊苷: $y = 1509.6x - 16272$, $r = 0.9992$, 线性范围为 0.840~5.040 μg ; 木犀草素: $y = 7148.5x + 26667$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.226~1.356 μg ; 芹菜素: $y = 1975.2x + 3354.8$, $r = 0.9997$, 线性范围为 0.086~0.516 μg ; 精密度、稳定性、重复性试验 RSD 均小于 2%; 加样回收率均在 95%~105% 之间。

3.5.2. 样品测定

取 24 批蓝盆花样品, 每批 3 份, 按“2.2.2”项下方法制备, 按“2.1”项下方法进行色谱分析, 测定样品中绿原酸、咖啡酸、獐芽菜苷、异槲皮苷、木犀草苷、异绿原酸 A、大波斯菊苷、芹菜素、木犀草素的含量, 结果见表 5。结果表明, 各批次中的绿原酸、咖啡酸、獐芽菜苷、异槲皮苷、木犀草苷、异绿原酸 A、大波斯菊苷、芹菜素、木犀草素的含量差异较大, 可能是因为批次之间的差异造成的。

Table 5. 24 batches of contents of main constituents about the Flos of *Scabiosa comosa* Fisch ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) $n = 3$
表 5. 24 批蓝盆花主要成分含量测定结果($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) $n = 3$

样品	质量分数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	绿原酸	咖啡酸	獐芽菜苷	异槲皮苷	木犀草苷	异绿原酸 A	大波斯菊苷	芹菜素	木犀草素
Lph1	1.48	0.30	1.21	0.76	0.68	5.70	7.16	0.98	1.63
Lph2	2.28	0.15	1.96	0.92	0.68	5.54	3.60	0.89	1.55
Lph3	2.38	0.13	1.43	1.15	1.15	4.43	3.85	0.20	1.01
Lph4	1.53	1.58	1.02	0.81	0.61	5.41	4.60	0.58	1.18
Lph5	2.06	1.44	0.74	1.03	0.99	4.93	4.21	0.93	1.32
Lph6	2.28	0.30	1.05	1.02	0.91	3.68	2.35	0.26	1.03
Lph7	1.31	0.64	1.10	0.69	0.54	2.57	1.82	0.80	0.67
Lph8	1.77	1.14	0.56	1.03	0.60	3.55	2.24	0.30	0.30
Lph9	1.50	0.40	1.42	0.78	0.61	5.18	4.16	0.66	1.39
Lph10	1.54	0.11	0.78	0.79	0.93	5.51	6.01	0.69	0.57
Lph11	1.86	0.61	1.07	0.91	0.81	5.10	4.27	1.17	0.82
Lph12	2.80	0.29	1.29	0.95	0.72	4.57	2.71	0.88	1.56
Lph13	0.69	0.94	0.70	0.41	0.79	3.51	2.82	0.28	1.22
Lph14	0.30	0.73	0.70	0.37	0.67	5.06	2.06	2.06	1.10
Lph15	1.13	0.20	0.63	0.88	0.98	7.81	7.61	0.72	1.40
Lph16	0.16	0.34	0.44	1.21	0.63	5.35	5.01	0.90	0.90
Lph17	0.20	0.18	0.99	0.63	0.77	8.20	9.14	0.89	1.26
Lph18	0.11	0.44	0.96	0.35	1.64	8.68	8.84	0.24	2.56
Lph19	1.02	1.05	0.75	1.15	0.58	0.58	2.56	0.70	1.77
Lph20	0.05	0.32	0.71	0.90	1.15	6.42	7.93	0.26	1.03
Lph21	0.10	1.43	1.11	1.04	1.20	5.15	4.47	0.52	1.24
Lph22	0.19	0.30	1.36	0.44	0.56	5.60	6.41	1.23	1.09
Lph23	0.23	0.44	0.64	0.48	0.82	5.07	5.53	0.98	2.25
Lph24	2.03	0.42	0.83	0.56	1.10	5.88	5.42	2.01	1.85

4. 讨论

4.1. 提取条件的选择

蒙药材蓝盆花主要成分有黄酮类, 萜类及环烯醚萜类等化合物, 其具有较高的亲水性, 易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂。本实验中, 比较 60% 甲醇回流 1 h 和 2 h、80% 甲醇回流 1 h、乙醇回流 1 h、甲醇回流 1 h 和超声 1 h 各(20 mL)的提取效果, 峰的分离度不理想且峰面积小。通过不同提取方法的比较, 确定为提取溶剂为甲醇, 提取方式为回流提取 60 min [8]。

4.2. 色谱条件的选择

色谱条件流动相的选择, 以检测出样品的有效成分、洗脱的色谱峰及分离度为指标, 比较了乙腈-磷酸水体系, 甲醇-磷酸水体系。结果表明, 使用乙腈-0.1% 磷酸水体系洗脱条件下色谱峰分离效果较好。检测波长的选择中, 对蓝盆花样品在 327 nm、350 nm、254 nm 波长下进行测定时, 在 254 nm 时吸收较好, 且最终确定 254 nm 为检测波长。柱温的选择, 主要比较了 30℃ 和 40℃, 在 30℃ 的时不吸收, 40℃ 下有效成分的峰吸收较好且分离度较[9]。

4.3. 结果分析

24 批药材与共有模式对照指纹图谱的相似度均在 0.9 以上, 说明不同产地蓝盆花药材化学组成一致性较好, 但同时也应看到各色谱峰的相对峰面积还有一定的差异。因此应用过程中, 蓝盆花药材来源和产地均应该固定, 这对保证产品质量的稳定具有重要意义, 为建立该蒙药材的特征图谱蒙药蓝盆花的质量标准研究提供更全面的依据[10]。HPLC 特征指纹图谱更加全面客观地反映了药材特性的色谱分离图, 制定出系统性、特征性和稳定性均较好的药材指纹图谱, 为药材的质量评价提供了全面的分析方法[11][12]。

基金项目

蒙药标准化研究国际合作科技创新项目(MDKBZH2018014); 蒙药资源保护与可持续利用研究创新平台项目(MY20190002)。

参考文献

- [1] 内蒙古自治区卫生厅. 内蒙古蒙成药标准[S]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 1984: 140.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 蒙药卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 385.
- [3] 朱亚明. 内蒙古植物药志[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2000: 113.
- [4] 中华人民共和国卫生部药典委员会, 编. 中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册) [S]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 1998: 52.
- [5] 罗布桑. 蒙药学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006: 375-376.
- [6] 王国英, 薛培凤, 高汝燕, 乌静. 紫外可见分光光度法测定蒙药蓝盆花中总黄酮的含量[J]. 内蒙古医学院学报, 2010, 32(2): 219.
- [7] 王国英, 赵子龙, 薛培凤, 马飞祥, 张冬艳, 王娜娜, 李旻辉. 华北蓝盆花化学成分研究[J]. 中国药房杂志, 2015, 40(5): 808.
- [8] 白玉霞, 通拉嘎. 蒙药蓝盆花 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(6): 613.
- [9] 马飞祥, 赵子龙, 薛培凤, 李春燕, 王媛媛, 韩盟帝. 蒙药蓝盆花 HPLC 特征图谱及 7 种成分的含量测定[J]. 中药材, 2018, 41(3): 649.
- [10] 薛培凤, 布仁, 高建萍. HPLC 法测定蒙药蓝盆花中木犀草素和芹菜素的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(15):

1407.

- [11] 孙兴姣, 席琳图雅, 那生桑, 李红娇, 李阳, 向昌林, 李骁, 蒙药肋柱花 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药, 2019, 50(7): 1707.
- [12] 张国强, 李运, 潘建忠, 邱国玉, 石晓峰, 李志俊, 马趣环, 程显隆, 紫斑牡丹花粉 HPLC 特征图谱及 4 个成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(11): 2026.