

HPLC 测定山西安泽青翘、老翘主要成分含量

岳晓华, 史静超, 薛慧清*, 王一婕, 高丽, 郭羽
(山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] 目的: 比较山西安泽青翘与老翘中连翘酯苷、连翘苷、芦丁的含量, 为临床上连翘的合理应用、保证临床疗效提供理论依据。方法: 青翘、老翘药材粉末中加甲醇超声波提取 45 min; 采用 HPLC 测定 3 种主要成分的含量, 色谱柱为 HITACHI C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 醋酸水, 梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 测定波长 280 nm, 进样量 10 μL。结果: 青翘中连翘酯苷, 连翘苷、芦丁的含量分别为 2.38%, 0.37%, 0.26%; 老翘中 3 种成分的含量分别为 0.74%, 0.20%, 0.09%。结论: 山西安泽青翘中连翘酯苷、连翘苷、芦丁的含量均明显高于老翘。

[关键词] HPLC; 青翘; 老翘; 连翘酯苷; 连翘苷; 芦丁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0095-03

[doi] 10.11653/zgsyfjxzz2013070095

Quantitative Determination of Major Constituents in Green Fructus Forsythiae and Grown Fructus Forsythiae from Shanxi Anze by HPLC

YUE Xiao-hua, SHI Jing-chao, XUE Hui-qing*, WANG Yi-jiè, GAO Li, GUO Yu
(Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the forsythoside, forsythin and rutin of Green Fructus Forsythiae and Grown Fructus Forsythiae from Shanxi Anze, the main ingredient content can provide the basis for application of forsythia in clinical. **Method:** The samples were extracted by ultrasonic extraction with methanol, and separated at 25 °C on a HITACHI C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column, eluted with methanol-acetic acid water as mobile phase. Flow rate was set at 1 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set at 280 nm. Sample size was 10 μL.

[收稿日期] 20121011(001)

[基金项目] 山西省科技攻关项目(20080311052-1)

[第一作者] 岳晓华, 硕士学位, 实验师, 从事中药成分的提取分离、功效研究及细胞培养技术研究, Tel: 0351-2272442, E-mail: yuexiaohua888@163.com

[通讯作者] * 薛慧清, 博士, 教授, 从事中药及天然药物有效成分的提取分离、结构鉴定及活性研究, Tel: 0351-2272277, E-mail: xuehuiqing@sina.com

大多数为萜类化合物、饱和脂肪族类化合物和不饱和脂肪族类化合物; 但水蒸气蒸馏法提取得到的挥发油成分较多, 可能是由于水蒸气蒸馏法通过加热提取, 温度较高, 对挥发油提取得更为充分。对匙羹藤叶挥发油成分的提取、分析有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2461.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 下册

- [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 573.
- [3] 广西壮族自治区中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁: 广西人民出版社, 1986: 376.
- [4] 黄泰康, 丁志遵. 现代本草纲目: 上卷[M]. 北京: 中国医药出版社, 2001: 1437.
- [5] 丘琴, 甄汉深, 石琳. 广西匙羹藤叶挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3083.
- [6] 从浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 26.

[责任编辑 顾雪竹]

Result: The forsythoside, forsythin and rutin of Green Fructus Forsythiae were 2.38%, 0.37%, 0.26%; the content of the three components of Grown Fructus Forsythiae was 0.74%, 0.20%, 0.09%. **Conclusion:** The main ingredient content of the Green Fructus Forsythiae is higher than the Grown Fructus Forsythiae by HPLC.

[**Key words**] HPLC; Green Fructus Forsythiae; Grown Fructus Forsythiae; forsythoside; forsythin; rutin

连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 为木犀科连翘属植物,主产于山西、河南、山东等地,中药连翘为其干燥的果实,具有清热解毒、消肿散结功效,用于痈疽、瘰疬、乳痈、丹毒、温病初起、温热入营、高热烦渴、神昏发斑、热淋尿闭等症^[1]。连翘根据其果实成熟程度,商品中有青翘和老翘之分:果实初熟尚带绿色时采收的称为青翘,果实熟透颜色发黄时采收的称为老翘。本课题组对青翘和老翘的主要功效抑菌活性进行了对比研究,结果显示两者有差异^[2-4]。本实验将采用 HPLC 对青翘、老翘的主要化学成分连翘酯苷、连翘苷、芦丁的含量进行测定,比较青翘和老翘主要成分的含量,旨在探寻引起青翘和老翘抑菌活性差异的原因。

1 材料

1.1 仪器 HITACHI-Chromaster 型高效液相色谱仪(日本日立公司),KQ-500 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BT25S 型 1/10 万电子天平(德国赛多利斯公司),Option R7BP 型纯水与 Ultra Genetic 超纯水组合系统(英国 ELGA)。

1.2 试药 青翘与老翘药材均采自山西安泽,经山西中医学院中药鉴定教研室裴湘萍副教授鉴定,均为正品;连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110821-201112),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200707),连翘酯苷对照品(山西大学张立伟老师科研组馈赠,含量 > 98.0%);甲醇(色谱纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;实验用水为超纯水,其他试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 HITACHI C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)柱,流动相甲醇(A)-0.1% 醋酸水(B),流速 1 mL · min⁻¹,柱温 25 °C,测定波长 280 nm,进样量 10 μL。梯度程序 0 ~ 8 min, 30% ~ 33% A; 8 ~ 24 min, 33% ~ 40% A; 24 ~ 39 min, 40% ~ 45% A; 39 ~ 45 min, 45% ~ 64% A。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取青翘和老翘药材粉末(过 2 号筛)各 2 份,每份 0.2 g,置具塞锥形瓶中,2 份青翘与 2 份老翘精密加入 50% 甲醇 50 mL,称重,静置 10 min,超声(功率 300 W,频率

40 kHz)处理 45 min,取出,放冷,称重,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取滤液即得。

2.3 对照品溶液的制备 分别精密称取连翘酯苷、连翘苷、芦丁对照品适量,分别用甲醇配制成质量浓度为 3.0, 0.2, 0.1 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.4 线性关系考察 分别设定连翘酯苷,连翘苷,芦丁对照品溶液进样量为 2, 4, 6, 8, 12, 16 μL,按 2.1 项色谱条件分析,以进样量 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,得连翘酯苷回归方程 $Y = 8\ 733\ 534X - 567\ 255$ ($r = 0.999\ 5$);连翘苷的回归方程 $Y = 367\ 244X - 104\ 593$ ($r = 0.999\ 3$);芦丁的回归方程 $Y = 128\ 417X + 108\ 543$ ($r = 0.999\ 1$);结果表明,连翘酯苷在 6 ~ 48 μg 线性关系良好,连翘苷在 0.4 ~ 3.2 μg 线性关系良好,芦丁在 0.2 ~ 1.6 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 分别取连翘酯苷,连翘苷,芦丁对照品溶液,按照 2.1 的色谱条件分别重复进样 6 次,进样量为 10 μL,计算连翘酯苷、连翘苷、芦丁峰面积的 RSD 分别为 0.91%, 0.74%, 1.13%,表明该仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取青翘供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 各进样 10 μL,结果连翘酯苷、连翘苷、芦丁峰面积的 RSD 分别为 1.15%, 1.75%, 1.35%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取 6 份同一批次青翘药材粉末,每份 0.2 g,按照 2.2 方法制备,在上述色谱条件下分别进样 10 μL,测定峰面积并计算各组分含量和 RSD,结果连翘酯苷、连翘苷、芦丁的平均含量($n = 6$)分别为 2.54%, 0.33%, 0.22%, RSD 分别为 2.11%, 2.41%, 2.23%,表明重复性良好。

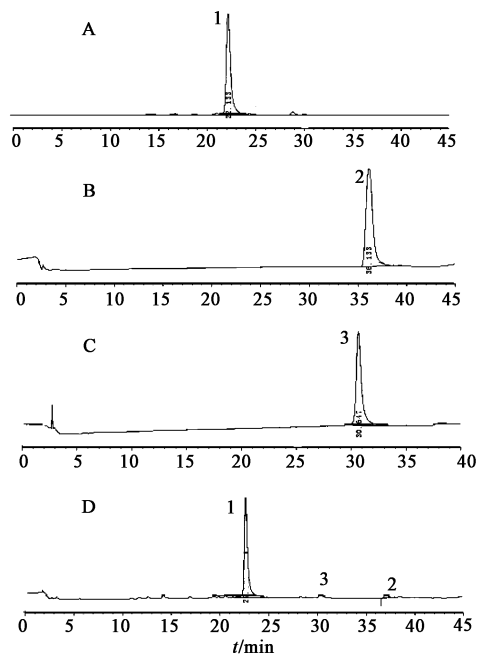
2.8 加样回收率试验 精密称取青翘药材粉末(过 2 号筛)6 份,每份 0.2 g,分别精密加入连翘酯苷对照品(5.1 g · L⁻¹),连翘苷对照品(0.73 g · L⁻¹),芦丁对照品(0.52 g · L⁻¹)各 1 mL,按照 2.2 方法处理,制备好的溶液每份进样 10 μL,根据测得量与加入量计算回收率,结果见表 1。

2.9 样品的测定 取 2.2 项制备好的供试品溶液,按 2.1 项的色谱条件测定各连翘样品中连翘酯苷,连翘苷,芦丁的百分含量,结果见图 1 与表 2。

表1 3种成分加样回收试验(n=6)

测定成分	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
连翘酯苷	4.76	5.10	9.72	97.3	96.1	1.71
	4.81	5.10	9.73	96.5		
	4.77	5.10	9.67	96.1		
	4.78	5.10	9.66	95.7		
	4.84	5.10	9.73	95.8		
	4.73	5.10	9.59	95.2		
连翘苷	0.74	0.73	1.46	98.6	98.3	2.11
	0.71	0.73	1.43	98.7		
	0.69	0.73	1.41	97.9		
	0.77	0.73	1.48	97.7		
	0.76	0.73	1.48	98.8		
	0.73	0.73	1.45	98.1		
芦丁	0.52	0.52	1.03	97.5	97.6	2.31
	0.49	0.52	0.99	97.9		
	0.54	0.52	1.05	98.1		
	0.53	0.52	1.04	98.3		
	0.51	0.52	1.02	97.2		
	0.48	0.52	0.98	96.6		

注:样品量为0.2g。



A~C. 对照品; D. 样品; 1. 连翘酯苷; 2. 连翘苷; 3. 芦丁

图1 超声波法提取连翘的HPLC

表2 西安泽青翘、老翘中连翘酯苷、连翘苷、芦丁的百分含量

样品名	连翘酯苷	连翘苷	芦丁
青翘	2.38	0.37	0.26
老翘	0.74	0.20	0.09

3 讨论

通过参考连翘成分测定的相关文献[5-9],本实

验选择50%甲醇超声提取青翘与老翘药材的主要成分。流动相分别考察了乙腈-水,甲醇-水,乙腈-水(0.1%醋酸),甲醇-水(0.1%醋酸)溶液梯度洗脱,其中多次更换洗脱程序,结果为甲醇-水(0.1%醋酸)对连翘酯苷、连翘苷、芦丁的分离效果较好,故选择为流动相。

实验结果表明,西安泽青翘与老翘药材中连翘酯苷、连翘苷、芦丁含量差异较大,青翘中3种成分的含量均明显高于老翘。根据文献资料显示:连翘的主要化学成分连翘苷、连翘酯苷具有抗菌、抗病毒、抗氧化作用;芦丁具有抗病毒、抗氧化、降低毛细血管脆性与通透性等多种活性^[10-11];青翘与老翘不同提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念球菌等均有抑制作用,但青翘作用大于老翘。青翘中的3种有效成分均高于老翘,为青翘活性优于老翘提供了充分的理论依据,同时为临床上连翘的合理选用及连翘药材质量评价提供了科学依据。

[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,2010:117.
- [2] 薛慧清,马雪梅,马文兵,等. 青翘提取物的抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(9):2241.
- [3] 马文兵,马雪梅,赵平,等. 青翘石油醚提取物的抑菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):181.
- [4] 尚彩玲,崔贻焱,薛慧清. 老翘提取物的抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(5):1139.
- [5] 薛智民,张立伟. 炮制方法对连翘主要化学成分连翘酯苷的影响[J]. 化学研究与应用,2011,23(5):607.
- [6] 曹音,石琳,宋志华,等. HPLC法测定连翘水提液中连翘苷的含量[J]. 广西中医学院学报,2008,11(1):54.
- [7] 刘瑞,张振秋,李伟铭,等. 连翘不同产地与不同炮制品中4种成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):83.
- [8] 杨树声. 连翘HPLC指纹图谱的建立及其化学模式识别研究[J]. 方药·药学研究,2011,24(11):23.
- [9] 李德成,刘庆燕. 连翘不同提取液对大肠杆菌体外抑菌作用比较[J]. 西南国防医药,2011,21(10):1059.
- [10] 王艳芳,王新华,朱宇同,等. 芦丁对甲型流感病毒抑制作用实验研究[J]. 中医学刊,2005,23(5):827.
- [11] 简永耀,靳龙文. 连翘的化学成分及药理学研究[J]. 淮海医药,2009,27(4):349.

[责任编辑 顾雪竹]