

· 化学与分析 ·

## HPLC 测定不同产地广东紫珠中 3 种苯乙醇苷的含量

蔡灏<sup>1</sup>, 孙秀漫<sup>1</sup>, 欧阳彩君<sup>1</sup>, 张蕾<sup>1</sup>, 谢智勇<sup>2</sup>, 廖琼峰<sup>1\*</sup>

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 中山大学药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 采用 RP-HPLC-DAD 测定不同产地广东紫珠的叶与茎枝中金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 的含量。方法: 采用 Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 °C, 流动相乙腈-0.1% 乙酸水(20:80), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 330 nm。结果: 金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 依次在 9.96~498, 20.8~1004, 10.1~505 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系; 三者平均加样回收率分别为 101.3% (RSD 0.59%), 98.7% (RSD 1.1%), 104.2% (RSD 0.71%)。不同产地广东紫珠的叶与茎枝中金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 的质量分数范围分别为 0.076%~1.87%, 0%~3.19%, 0.102%~1.59%。结论: 建立的方法准确、快速、重复性好, 可用于同时测定广东紫珠中金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 的含量, 为广东紫珠的质量控制提供实验依据。

**[关键词]** 广东紫珠; 苯乙醇苷; 连翘酯苷 B; 金石蚕苷; 毛蕊花糖苷; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0063-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013100063

## Content Determination of Three Kinds of Benzene Glycosides in Different Parts of *Callicarpa kwangtungensis* from Different Areas by HPLC

CAI Hao<sup>1</sup>, SUN Xiu-man<sup>1</sup>, OUYANG Cai-jun<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>,  
XIE Zhi-yong<sup>2</sup>, LIAO Qiong-feng<sup>1\*</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;  
2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a RP-HPLC-DAD method for determination of forsythiaside B, poliumoside, verbascoside in the leaves and stems of *Callicarpa kwangtungensis* from different habitats. **Method:** The separation was performed on a Phenomenex Luna C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile-0.1% acetic acid (20:80), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature was 30 °C and the detecting wavelength was at 330 nm. **Result:** The linear ranges of forsythiaside B, poliumoside and verbascoside were 10.1-505, 9.96-498, 20.8-1004 mg·L<sup>-1</sup>, respectively; The average recoveries of three kinds of benzene glycosides were 104.2% (RSD 0.71%), 101.3% (RSD 0.59%), 98.69% (RSD 1.1%), respectively. Samples of *C. kwangtungensis* from different habitats were analyzed, the results showed that content range of forsythiaside B, poliumoside and verbascoside were 0.102%-1.59%, 0.076%-1.87%, 0%-3.19%, respectively. **Conclusion:** This established method was rapid, accurate and repeatable. It could be used to simultaneously determinate the content of forsythiaside B, poliumoside and verbascoside in *C. kwangtungensis* and provide experimental basis for quality control of *C. kwangtungensis*.

**[收稿日期]** 20121206(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173564)

**[第一作者]** 蔡灏, 硕士, 从事中药药效物质基础研究, E-mail: caihao.1988@foxmail.com

**[通讯作者]** \* 廖琼峰, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药药效基础物质与药代动力学研究, Tel: 020-39358081, E-mail: liaoqf2075@yahoo.com

[ **Key words** ] *Callicarpa kwangtungensis*; benzene glycosides; forsythiaside B; poliumoside; verbascoside; content determination

广东紫珠味苦、涩、凉,归肝、肺、胃经,具有收敛止血、散瘀、清热解毒的功效<sup>[1]</sup>,主要分布于浙江、江西、福建等地<sup>[2]</sup>。现代药理研究发现,广东紫珠具有止血、镇痛、抑菌、抗炎的作用<sup>[3]</sup>,其主要药效成分为苯乙醇苷类化合物<sup>[4-7]</sup>,因此测定该化合物的含量对保证药材质量有重要意义。目前多选择金石蚕苷和连翘酯苷 B 作为指标成分进行含量测定<sup>[1,8]</sup>,此外,毛蕊花糖苷在广东紫珠中含量也较大,且在镇痛<sup>[5]</sup>、抗菌<sup>[9]</sup>方面发挥重要作用。故本实验拟建立 RP-HPLC-DAD 同时测定金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 含量的方法,通过测定不同产地广东紫珠的叶与茎枝中 3 种苯乙醇苷的含量,为合理评价广东紫珠质量提供实验依据。

### 1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司),HN1006 型超声波清洗机(中国)华南超声设备厂。

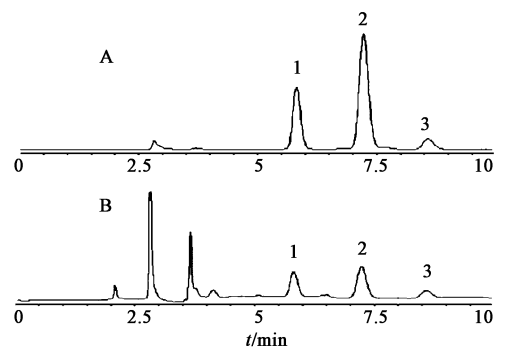
毛蕊花糖苷、连翘酯苷 B 对照品(均购自中国药品生物制品检定所,批号分别为 111530-201007,111811-201001,纯度均 > 98%),金石蚕苷对照品(四川省维克奇生物技术有限公司,批号 120511,纯度 > 98%),甲醇、乙腈为色谱级,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。广东紫珠药材分别购于江西和贵州多处药材种植基地,经广州中医药大学潘超美教授鉴定为马鞭草科植物广东紫珠 *Callicarpa kwangtungensis* Chun 的地上部分。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 30 °C,流动相乙腈-0.1% 乙酸水(20:80),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 330 nm,进样量 10 μL。见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 取各对照品适量,精密称定,加 75% 甲醇制成金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 质量浓度分别为 498,1 004,505 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取广东紫珠,40 °C 烘干,粉碎后过三号筛(40 目),取约 0.25 g,精密称定,置 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 10 mL,称定质量,超声提取(300 W,40 kHz) 30 min,放冷,称定质量,用 75% 甲醇补足缺失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,



A. 对照品; B. 供试品; 1. 连翘酯苷 B; 2. 金石蚕苷; 3. 毛蕊花糖苷

图 1 广东紫珠 HPLC

即得。

**2.4 线性关系考察** 分别精密移取 2.2 项下混合对照品储备液 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.5, 5 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中,加 75% 甲醇稀释到刻度,摇匀,按上述色谱条件进行进样分析。以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y_{\text{连翘酯苷 B}} = 1.999 \times 10^4 X + 3.376 \times 10^4$  ( $r = 0.9992$ ),  $Y_{\text{金石蚕苷}} = 1.749 \times 10^4 X + 6.758 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y_{\text{毛蕊花糖苷}} = 1.738 \times 10^4 X + 4.082 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ); 线性范围依次为 10.1 ~ 505, 9.96 ~ 498, 20.8 ~ 1 004 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.5 精密度试验** 取混合对照品溶液,连续进样 6 次。结果金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 含量的 RSD 分别为 0.65%, 0.43%, 0.77%, 说明仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取广东紫珠(安源 1-叶)6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,进样。结果金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 平均质量分数分别为 1.34%, 0.795%, 1.40%, RSD 分别为 1.2%, 2.1%, 2.1%, 表明该方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 取广东紫珠(安源 1-叶)按 2.3 项下方法制备供试品溶液,室温放置,分别在 0, 6, 12, 24 h 测定。结果金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 含量的 RSD 分别为 1.1%, 2.4%, 1.4%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的广东紫珠(安源 1-叶)粉末 6 份,每份约 0.125 g,各精密加入含金石蚕苷(165 mg·L<sup>-1</sup>)、毛蕊花糖苷(100 mg·L<sup>-1</sup>)、连翘酯苷 B(170 mg·L<sup>-1</sup>)的混合对照品溶液 10 mL,按 2.3 项下方法制备供试溶液,分别进

样,计算回收率。结果金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 的平均回收率分别为 101.3%,98.6%,104.2%;RSD 分别为 0.59%,1.1%,0.71%。

**2.9 样品测定** 分别取不同产地和不同采收期广东紫珠药材各 3 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液。在上述色谱条件下,分别进样 10  $\mu$ L,记录峰面积,计算广东紫珠中金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 的含量,见表 1。

表 1 不同产地广东紫珠的不同部位中指标成分的含量测定 ( $n=3$ ) %

No.	产地-部位	连翘酯苷 B	金石蚕苷	毛蕊花糖苷
1	安源 1-叶	1.40	1.34	0.795
2	安源 1-茎	0.715	1.00	-
3	安源 2-叶	0.858	0.624	0.463
4	安源 2-茎	0.102	0.076	-
5	湘东-叶	0.865	1.21	0.280
6	湘东-茎	0.518	0.758	-
7	铜鼓一年生-叶	1.03	1.58	1.43
8	铜鼓一年生-茎	0.776	1.20	-
9	铜鼓两年生-叶	0.635	0.735	3.19
10	铜鼓两年生-茎	0.597	0.857	-
11	安龙-叶	1.59	1.87	0.415
12	安龙-茎	1.12	1.63	-
13	凯里-叶	0.380	0.721	-
14	凯里-茎	0.995	1.41	-

由表 1 可知,除广东紫珠(凯里)外,其他批次广东紫珠叶中指标成分的含量 > 茎。广东紫珠(凯里)的叶和茎中均不含毛蕊花糖苷,其他批次广东紫珠叶中含毛蕊花糖苷,茎不含毛蕊花糖苷。同一产地(铜鼓)、不同采收期的广东紫珠组分含量差异大。各产地的广东紫珠中组分差异较大,受产地、采收期影响较大。

### 3 讨论

毛蕊花糖苷受热不稳定,故本实验选择超声提取,并对提取时间进行考察。结果发现提取 30 min 时,毛蕊花糖苷提取率最大,超过 30 min 后,提取率约下降 1/3,故选择超声提取时间 30 min。由于组分为含酚羟基物质,容易造成拖尾峰,而在流动相中加入 0.1% 乙酸,可有效消除拖尾现象;因此采用乙

腈-0.1% 乙酸水(20:80)为流动相,各组分出峰时基线平稳,峰形和分离度均较好。

目前,广东紫珠的质量评价多以连翘酯苷 B 及金石蚕苷含量为指标<sup>[1,8,10]</sup>。本实验建立了同时测定广东紫珠的叶与茎枝中金石蚕苷、毛蕊花糖苷及连翘酯苷 B 含量的 HPLC,该方法准确、快速、重复性好,为更加合理地评价广东紫珠的质量提供参考和新依据。

### [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: 化工出版社, 2010:40.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[S]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999:5926.
- [3] 聂鞞, 朱培林, 黄雨莉, 等. 广东紫珠药材的研究进展[J]. 中国现代中药, 2011, 13(9):37.
- [4] Zhang J, Li B, Feng F, et al. Chemical constituents from *Callicarpa nudiflora* and their hemostatic activity [J]. *China J Chin Materia Medica*, 2010, 35(24):3297.
- [5] Isacchi B, Iacopi R, Bergonzi M C, et al. Antihyperalgesic activity of verbascoside in two models of neuropathic pain [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63(4):594.
- [6] Sarmad M, Mahalakshmi Priya A, Senthil K. Chemical composition and *in-vitro* antimicrobial activity of *Barleria lupulina* essential oil [J]. *J Herbs Spices Med Plants*, 2012, 18(1):101.
- [7] Jiang W L, Xu Y, Zhang S P, et al. Forsythoside B protects against experimental sepsis by modulating inflammatory factors [J]. *Phytotherapy Res*, 2012, 26(7):981.
- [8] 周国平, 谢二磊, 章红, 等. HPLC 法同时测定不同来源抗宫炎片中连翘酯苷 B 和金石蚕苷的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(10):1623.
- [9] Nikonorova A K, Egorov C A, Galkina T G, et al. Antifungal activity of phenolic glycozide verbascoside from *Plantago major* seeds [J]. *J Mikologiya I Fitopatologiya*, 2009, 43(1):52.
- [10] 张洁, 李宝泉, 冯锋, 等. 裸花紫珠化学成分及其止血活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(24):3297.

[责任编辑 全燕]