

不同采收期金莲花中 3 种碳苷黄酮成分动态变化

南敏伦¹, 赵昱玮¹, 司学玲², 赫玉芳^{1*}, 于淼³, 何帆², 赵全成¹

(1. 吉林省中医药科学院, 长春 130012; 2. 修正药业集团长春高新制药有限公司, 长春 130012;
3. 吉林天药药物研发有限公司, 长春 130012)

[摘要] **目的:**通过研究不同采收期金莲花 3 种碳苷黄酮成分的动态变化, 确立金莲花的最佳采收期, 为金莲花取得最大药用价值提供科学依据。**方法:**采用高效液相色谱法, 以乙腈-0.35% 磷酸溶液 (14:86) 为流动相, 在 345 nm 波长处同时测定不同采收期金莲花中荜草苷、牡荆苷、荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷 3 种碳苷黄酮成分的含量。**结果:**金莲花中 3 种碳苷黄酮成分的含量不同时期存在差异, 均以开花后 3~6 d 为最高。**结论:**开花后 3~6 d 为金莲花的最佳采收时期, 方法简便、精密度高、重复性好, 为金莲花取得最大药用价值提供科学依据。

[关键词] 金莲花; 高效液相色谱法; 采收期; 荜草苷; 牡荆苷; 荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0118-03

Study on Dynamic Changes of Three Flavonoid C-Glycosides Constituents in Different Harvest Time of Trollius Chninesis

NAN Min-lun¹, ZHAO Yu-wei¹, SI Xue-ling², HE Yu-fang^{1*}, YU Miao³, HE fan², ZHAO Quan-cheng¹

(1. Academy of Chinese Medical Sciences of Jilin Province, Changchun 130012, China;

2. Pharmaceutical Group Changchun High-tech Pharmaceutical Company Limited, Changchun 130012, China;

3. Natural Pharmaceutical R&D (JiLin China) Co. Ltd., Changchun 130012, China)

[Abstract] **Objective:** According to the study on dynamic changes of three flavonoid C-glycosides constituents in different harvest time of trollius chninesis, the best harvest time for trollius chninesis was established, providing a scientific basis to achieve the greatest medicinal value. **Method:** Using a HPLC method for gradient elution, the mobile phase was a mixture of acetonitrile-0.35% phosphoric acid (14:86), and the detection wavelength was set at 345 nm. The content of orientin, vetixin, 2''-O-β-L-galactopyranosyl orientin in different harvest time was tested. **Result:** Three flavonoid C-glycosides in trollius chninesis in different periods reached to the top after 3 to 6 days when blossomed. **Conclusion:** 3 to 6 days after blossom of trollius chninesis is considered to be the best harvest time. This method is simple with high precision and good repeatability, which offered a scientific basis to achieve the greatest medicinal value.

[Key words] trollius chninesis; HPLC; harvest time; orientin; vetixin; 2''-O-β-L-galactopyranosyl orientin

金莲花为毛茛科植物金莲花的干燥花, 又名早

金莲、金梅草、旱地莲、金芙蓉等, 首载于《本草纲目拾遗》。在我国主要分布于东北、华北等地区, 具有清热解毒、抗菌消炎等作用, 具有很好的抗菌、抗病毒等作用, 临床主要用于上呼吸道感染、咽炎、扁桃体炎等^[1], 金莲花的主要药效成分是黄酮类化合物, 如荜草苷、牡荆苷和荜草素-2''-O-β-L-半乳糖苷具抗癌、抗氧化、降压、解痉、消炎等药理作用^[2-4]。本研究采用 HPLC 测定金莲花中 3 种碳苷黄酮荜

[收稿日期] 20120522(005)

[基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20100909)

[第一作者] 南敏伦, 助理研究员, 从事植物资源及植物化学研究, Tel: 0431-86058683, E-mail: nml2000@163.com

[通讯作者] * 赫玉芳, 副研究员, 从事植物资源及植物化学研究, Tel: 0431-86058683, E-mail: hyf_1992@163.com

草苷、牡荆苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷在不同采收期内的含量变化,初步揭示了金莲花不同采收期内3种碳苷黄酮含量的不同。

1 材料

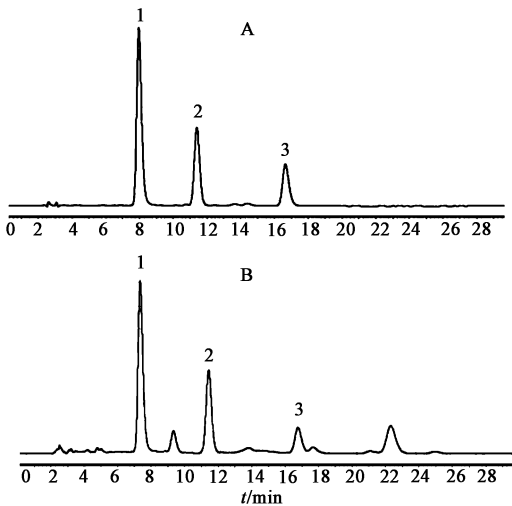
1.1 仪器 LC-10A型高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-10A紫外检测器,手动进样,N2000色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司),KQ-100型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BS110S型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 试剂与药品 荭草苷、牡荆苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号111777-200801,111687-200602)、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品(自制,纯度为99.6%);甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯,纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

药材采自内蒙阿尔山,由吉林省中医药科学院赵全成研究员鉴定为毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge.。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 迪马 Diamonsil(钻石) C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,检测波长345 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温25℃,进样量10 μL,流动相乙腈-0.35%磷酸溶液(14:86)^[5],按荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷峰计算理论板数不低于5 000。对照品溶液、供试品溶液色谱图见图1。



1. 荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷;2. 荭草苷;3. 牡荆苷

图1 3种对照品(A)及样品(B)HPLC

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取荭草苷、牡荆苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含荭草苷0.04 mg、牡荆苷0.02 mg、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷0.08 mg的对照品混合

溶液。

2.3 供试品溶液的制备 采收于不同时期的金莲花。干燥,粉碎,取0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇100 mL,称定质量,加入甲醇40 mL,超声提取30 min,取出,放置至室温,用甲醇定容至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密称取荭草苷对照品9.98 mg、牡荆苷对照品5.02 mg、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品10.08 mg,精密称定,分别置25 mL量瓶中,加甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,分别精密量取荭草苷对照品溶液1 mL,牡荆苷对照品溶液0.5 mL,荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品溶液2 mL,置同一10 mL量瓶中,加甲醇溶解,并定容至刻度,摇匀,即得。分别吸取对照品溶液4,8,12,16,20 μL,按上述色谱条件测定。以峰面积为纵坐标,分别以荭草苷、牡荆苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷含量为横坐标绘制标准曲线。荭草苷、牡荆苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的回归方程分别为 $Y = 1\ 638\ 243.99X - 3\ 063.05$ ($r = 0.999\ 8$); $Y = 685\ 942.25X + 567.84$ ($r = 0.999\ 9$); $Y = 2\ 654\ 156.32X + 1\ 867.25$ ($r = 0.999\ 8$);荭草苷、牡荆苷、荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷分别在0.159 68~0.798 4,0.040 16~0.200 8,0.322 56~1.612 8 μg线性良好。

2.5 中间精密度试验 取同一供试品,在不同人员、不同时间按照供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,测定荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的峰面积,根据峰面积计算,得荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷含量的RSD($n = 6$)分别为1.02%,1.96%,0.91%。说明了该方法中间精密度良好。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液,分别在0,2,4,6,8,10 h进样10 μL,测定荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷峰面积的RSD($n = 6$)分别为1.27%,1.19%,0.89%,说明了该方法稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一样品6份,按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,进样分析,结果荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的RSD($n = 6$)分别为0.95%,1.31%,1.54%,表明重复性良好。

2.8 准确度试验 精密称取已知含量的供试品6份各约0.15 g,置于50 mL量瓶中,分别精密加入荭草苷3.03 mg(荭草苷甲醇溶液1.0 mL,质量浓度为3.03 g·L⁻¹)、牡荆苷1.37 mg(牡荆苷甲醇溶液1.0

mL, 质量浓度为 $1.37 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷 5.02 mg (荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷甲醇溶液 1.0 mL , 质量浓度为 $5.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 按 2.3 项下制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 进行加样回收率考察, 结果荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的平均回收率结果见表 1。

表 1 荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的平均回收率 ($n=6$)

成分	称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
荭草苷	0.15	3.02	3.03	6.04	99.67	99.12	0.45
	0.15	3.03	3.03	6.05	99.67		
	0.15	3.04	3.03	6.03	98.68		
	0.15	3.01	3.03	6.01	99.01		
	0.15	3.02	3.03	6.01	98.68		
	0.15	3.03	3.03	6.03	99.01		
牡荆苷	0.15	1.37	1.37	2.72	98.54	98.30	1.01
	0.15	1.37	1.37	2.70	97.08		
	0.15	1.38	1.37	2.71	97.08		
	0.15	1.36	1.37	2.72	99.27		
	0.15	1.36	1.37	2.72	99.27		
	0.15	1.37	1.37	2.72	98.54		
半乳糖苷	0.15	5.03	5.02	10.01	99.20	98.80	0.42
	0.15	5.05	5.02	9.98	98.21		
	0.15	5.06	5.02	10.02	98.80		
	0.15	5.01	5.02	9.99	99.20		
	0.15	5.02	5.02	9.99	99.00		
	0.15	5.05	5.02	9.99	98.40		

2.9 样品分析 取 2.3 项制备好的供试品溶液各 3 份, 进行含量测定, 每个供试品进样 3 次, 按 2.1 项下进行高效液相色谱分析, 测定各指标成分的峰面积并计算含量。结果见表 2。

3 讨论

荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的含量以开花后 6 d 采集的金莲花中最高, 开花 6 d 以

表 2 不同采收期 3 种碳苷黄酮含量测定 ($n=3$) %

No.	采收期	部位	荭草苷	牡荆苷	半乳糖苷	含量之和
1	花蕾	花蕾	1.78	0.89	3.25	5.92
2	开花后 3 d	花	2.01	0.91	3.35	6.27
3	开花后 6 d	花	2.02	0.93	3.37	6.32
4	开花后 10 d	花	1.69	0.76	3.20	5.65
5	开花后 15 d	花	1.47	0.74	2.87	5.08
6	开花后 20 d	花	1.42	0.66	2.65	4.73

后荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷含量呈逐渐下降趋势。而且不同采收期金莲花中碳苷类黄酮成分荭草苷、牡荆苷和荭草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的含量有差异, 各成分含量均在开花后 3~6 d 达到最高值, 6 d 后随生长采收期的延长含量逐渐降低, 与参考文献 [6-7] 报道总黄酮动态变化基本相符。本研究为金莲花药材的药用最大化提供依据。

[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: 1398.
- [2] 曾春萍, 饶娜, 杨国栋, 等. 高效液相色谱法测定金莲花制剂中 3 种黄酮苷的含量 [J]. 河北中医, 2011, 33 (3): 424.
- [3] 苏连杰, 刘丽娟, 郭桂滨, 等. 长瓣金莲花不同药用部位综合研究 [J]. 中医药信息, 1996, 13 (2): 49.
- [4] 苏连杰, 王辉, 苏志伟, 等. 金莲花属植物的化学成分及药理最用 [J]. 国外医药: 植物分册, 2005, 20 (1): 14.
- [5] 窦妍, 翟延君. HPLC 测定不同采收期荭草中荭草素、异荭草素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (2): 62.
- [6] 赵利群. 采收时间对金莲花总黄酮含量的影响 [J]. 河北林业科技, 2011, 4 (总 179): 15.
- [7] 张进祥, 段吉平. 紫外风光光度法测定金莲花中总黄酮的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (10): 36.

[责任编辑 顾雪竹]