

工艺研究

金莲花不同煎煮方法水提取液中 4 种
药效组分含量和比例的测定[△]杨晶凡^{1,2}, 张贵君^{1*}, 张春晖¹, 刘铭铭¹, 韩茹¹

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102;

2. 南华大学生命科学与技术学院, 湖南 衡阳 421001)

[摘要] 目的: 考察金莲花不同传统用药方式的水提取液中各药效组分的含量和比例关系情况, 从而为金莲花药效组分的确定奠定基础。方法: 采用高效液相色谱法。结果: 测得金莲花 3 个用药方式水提取液中荜苈子、牡荆子、红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、藜芦酸 4 种药效组分的量比关系分别为 (3.4:1.0:10.3:1), (3.3:1.1:9.9:1), (3.4:1.1:10.6:1)。结论: 符合传统用药的不同金莲花水煎液中 4 种药效组分间保持相对稳定的比例关系。

[关键词] 金莲花; 药效组分

金莲花 *Flos Trollii Chinensis* 为来源于毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge. 的干燥花, 是常用的清热解毒类中药。在传统用药中, 金莲花可单味泡茶饮, 也可与其他中药配伍煎服, 用于治疗上呼吸道感染性疾病如咽炎、扁桃体炎等, 疗效显著。实验研究发现, 金莲花水提取物主要药效物质为红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、荜苈子、牡荆子等黄酮碳苷类化合物及藜芦酸等有机酸类化合物。对金莲花及其提取物的抗菌、抗病毒等药理作用已有报道^[1-2], 本实验室前期研究证实藜芦酸对乙型链球菌、流感嗜血杆菌和肺炎链球菌等均有较好的抑菌和杀菌作用, 研究结果将另文发表。

汤剂是传统中药临床用药的主要形式, 其有效性是经过悠久历史验证的。所以中药的药效物质应存在于其水提取液中, 且以一定比例关系存在, 组成药效组分^[3]。若掌握了与临床疗效相关的各药效组分的含量及其比例关系, 将为中药质量标准的制定提供可靠的理论依据。本文以内蒙古阿尔山金莲花为实验对象, 依据传统用药方式, 制备具有临床疗效的不同金莲花水提取液, 并对 4 种药效组分进行测定, 旨在为药效组分的深入研究及质量标准的制定提供科学数据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 四元泵, 紫外检

测器。

1.2 材料

药材为当年采自阿尔山的毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge. 的干燥花, 经北京中医药大学中药学院张贵君教授鉴定为正品。荜苈子对照品 (Alchimica, A5310-0010, ≥99.0%), 牡荆子对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111687-200501), 藜芦酸对照品 (Fluka 公司, 94872, ≥99.0%), 红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷对照品为自提, 纯度达到 98.0%。乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法^[4-5]与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Venusil ABS-C₁₈ (5μm, 4.6mm × 250mm)。藜芦酸检测波长为 254nm, 其他 3 种成分的检测波长均为 345nm, 柱温: 25℃; 流速均为 1.0 mL·min⁻¹, 流动相: 荜苈子、牡荆子、红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷为 0.3% 磷酸水-乙腈 (82:18), 藜芦酸为 0.3% 磷酸水-乙腈 (78:22)。色谱图见图 1 ~ 图 6。

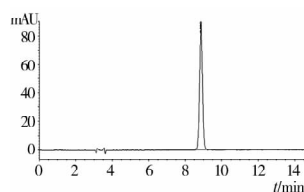


图 1 荜苈子对照品 HPLC 图

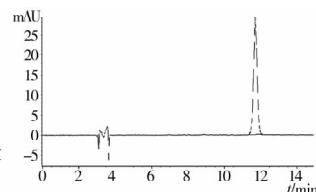


图 2 牡荆子对照品 HPLC 图

[△][基金项目] 广东省教育部产学研项目 (03032)

[通讯作者] * 张贵君, E-mail: guijunzhang@163.com

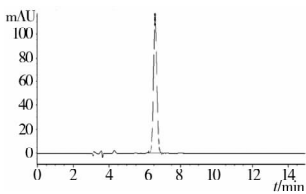
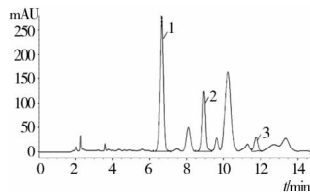


图 3 红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品 HPLC 图



1. 红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷;
2. 荭草苷; 3. 牡荆苷

图 4 金莲花中红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷 HPLC 图

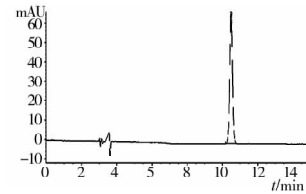


图 5 藜芦酸对照品 HPLC 图

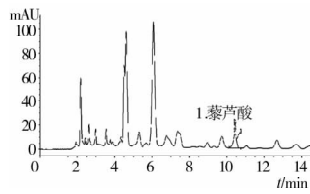


图 6 金莲花中藜芦酸 HPLC 图

2.2 供试品制备

样品溶液制备：称取当年金莲花 5.0g，分别以 A 方法：加 15 倍水，第 1 次煎煮 20min，第 2 次煎煮 15min，合并两次煎煮液，定容至 100mL；B 方法：加 30 倍水，第 1 次煎煮 20min，第 2 次煎煮 15min，合并两次煎煮液，定容至 300mL；C 方法：加 50 倍水，第 1 次沸水浸泡 10min，第 2 次沸水浸泡 10min，合并两次煎煮液，定容至 500mL；每个煎煮方式平行制备 3 份样品。

2.3 对照品溶液制备

取荭草苷对照品 2.0mg，精密称定，置 10mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，制成每 1mL 含 200μg 荭草苷的溶液。

取牡荆苷对照品 2.0mg，精密称定，置 50mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，制成每 1mL 含 40μg 牡荆苷的溶液。

取红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品 2.0mg，精密称定，置 10mL 容量瓶中，用 60% 甲醇稀释至刻度，摇匀，制成每 1mL 含 200μg 红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷的溶液。

取藜芦酸对照品 5.0mg，精密称定，置 100mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，制成每 1mL 含 50μg 藜芦酸的溶液。

2.4 线性范围考察

分别精密吸取药效组分一定量注入液相色谱仪，测定，以对照品含量为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，求得回归方程及线性范围分别如下。

荭草苷： $Y = 2\,307.6X + 26.942$ ， $r = 0.999\,8$ ($n = 5$)，在 0.2 ~ 1.0μg 线性关系良好。

牡荆苷： $Y = 2\,952.5X + 0.8$ ， $r = 1$ ($n = 5$)，在 0.1 ~ 0.5μg 线性关系良好。

红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷： $Y = 1\,462.6X + 40.1$ ， $r = 1$ ($n = 5$)，在 1 ~ 5μg 线性关系良好。

藜芦酸： $Y = 3\,563X - 1.667$ ， $r = 1$ ($n = 5$)，在 0.1 ~ 0.5μg 线性关系良好。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液，于室温下放置，按色谱条件于 0，2，4，8，12h 分别测定荭草苷、牡荆苷、红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、藜芦酸 4 种成分，峰面积 RSD 分别为 0.68%，1.94%，0.97%，1.24%。表明供试品溶液在 12h 内稳定性良好。

2.6 精密度试验

精密吸取荭草苷、牡荆苷、红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、藜芦酸对照品溶液，连续测定 5 次，测定其峰面积值。峰面积 RSD 分别为 0.06%，0.35%，0.17%，0.15%。

2.7 重现性试验

按供试品溶液制备方法平行制备 5 份供试品溶液，按含量测定方法分别测定荭草苷、牡荆苷、红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷、藜芦酸 4 种成分的含量，RSD 分别为 0.99%，1.84%，1.8%，1.9%。

2.8 回收率试验

精密称取同法测定已知含量的供试品溶液 4 份，分别精密加入上述 4 种成分的对照品适量，作为加样回收供试品溶液，依法测定，计算回收率，结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

名称	样品中含量/μg	测出量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
荭草苷	0.215	0.412	96.10	98.83	1.40
	0.203	0.416	103.90		
	0.205	0.409	99.51		
	0.217	0.415	96.59		
	0.201	0.402	98.05		
牡荆苷	0.038	0.076	97.44	98.97	1.02
	0.037	0.077	102.56		
	0.040	0.078	97.44		
	0.038	0.076	97.44		
	0.041	0.080	100.00		
红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷	0.388	0.761	100.00	99.41	0.88
	0.381	0.754	100.00		
	0.392	0.762	99.20		
	0.374	0.753	101.61		
	0.371	0.730	96.25		
藜芦酸	0.038	0.073	97.30	100.54	1.57
	0.036	0.074	102.70		
	0.039	0.075	97.30		
	0.037	0.076	105.40		
	0.038	0.075	100.00		

注：荭草苷对照品加入量为 0.205μg，牡荆苷对照品加入量为 0.039μg，红草素-2''-O-β-L-半乳糖苷对照品加入量为 0.373μg，藜芦酸对照品加入量为 0.037μg

2.9 金莲花水煎液中 4 种药效组分的测定结果

按上述色谱条件分别测得 3 个不同加水量金莲花水煎液样品中各药效组分的平均含量,以每克生药所含药效组分的毫克数计算各药效组分间的量比关系,结果见表 2,各药效组分间的量比关系见表 3。

表 2 不同加水量金莲花水煎液样品中各药效组分的平均含量 /mg·g⁻¹

煎煮方法	荭草苷	牡荆苷	红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷	藜芦酸
A 方法	2.922	0.930	8.945	0.865
B 方法	2.807	0.902	8.511	0.856
C 方法	3.093	0.971	9.665	0.913

表 3 不同加水量金莲花水煎液样品中各药效组分间的量比关系

	荭草苷	牡荆苷	红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷	藜芦酸
A 方法	3.4	1.0	10.3	1
B 方法	3.3	1.1	9.9	1
C 方法	3.4	1.1	10.6	1

3 小结与讨论

本实验过程中,参考了多种流动相系统^[4-6],结果 0.3% 磷酸水-乙腈(82:18) 分离效果较好。采用本实验中的 HPLC 条件可同时测定红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、荭草苷、牡荆苷的含量,保留时间适中,峰形及分离度均较好,此方法可行且具有较高灵敏度。

金莲花在传统用药中既可单味代茶饮、单味或与其他中药配伍入汤剂。据此,本实验设计了不同提取方法,以考察不同临床应用形式金莲花水提取液中各药效组分的含量和比例关系。在不同金莲花水提取液中,荭草苷含量区间为(2.941±0.144) mg·g⁻¹、牡荆苷含量区间为(0.934±0.035) mg·g⁻¹、红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷含量区间为(9.040±0.336) mg·g⁻¹、藜芦酸含量区间为(0.879±0.030) mg·g⁻¹。荭草苷、牡荆苷、红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、藜芦酸 4 种药效组分的比例关系为(3.4:1.0:10.3:1);(3.3:1.1:9.9:1);(3.4:1.1:10.6:1)。由结果可以看出,虽各药效组分的含量在一定区间内变化,但各药效组分间仍保持了相对稳定的比例关系。

金莲花主要药效成分为黄酮类及有机酸类,其中荭草苷和牡荆苷的药理作用报道较多^[1-2],本实验室前期实验结果显示红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷是金莲花黄酮碳苷类组分中含量最高的药效组分之一,且在不同煎煮方法的水提取液中的溶出量亦均为最高^[7],红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷与荭草苷具有相同母核结构^[4],推断红草素-2"-O-β-L-半乳糖苷有可能在进入体内后水解掉糖苷键转化为荭草苷而发挥药效作用。前期实验结果显示藜芦酸在金莲花中的含量很稳定^[8],且其在灌胃金莲花水提取液的大鼠血浆中含量较高,提示藜芦酸在金莲花药效发挥中起到一定作用。所以过去仅以荭草苷和牡荆苷含量评价金莲花质量的方法有些不妥。在下一步的研究中,将依据本次实验结果,结合体药理学和内代谢学实验深入研究金莲花药效组分的药效学活性。为金莲花质量标准的确定提供更科学的依据。**TCM**

参考文献

[1] 林秋凤,冯顺卿,李药兰,等. 金莲花抑菌抗病毒活性成分的初步研究[J]. 浙江大学学报(理学版),2004,4(4): 412-415.

[2] 温云海,林岳生. 金莲花水浸提取液抗病毒的实验研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,1999,19(1):21.

[3] 张贵君. 中药研究的误区思考与创新研发的新思路[J]. 中国中药杂志,2007,32(13):1367.

[4] 黄文哲,梁旭. HPLC 测定短瓣金莲花中两种黄酮苷的含量[J]. 中国药学杂志 2000,10(10):658-659.

[5] 李小芩,张凤霞,刘惠平,等. 反相高效液相色谱法同时测定金莲花中 4 种黄酮类化合物的含量[J]. 药物分析杂志,2007,27(11):1683-1687.

[6] 杨雅信,张贵君. 金莲花中荭草素-2"-O-β-L-半乳糖苷的含量测定[J]. 中药材,2006,29(12):1312-1313.

[7] 杨雅信,张贵君. 金莲花 70% 乙醇提取液中黄酮碳苷类成分的研究[J]. 黑龙江医药,2006,19(2):93-94.

[8] 杨晶凡,张春晖,韩茹,等. 不同储存期金莲花中 4 种药效组分的测定[J]. 中国现代中药,2009,11(1):16-18.

(收稿日期 2008-12-01)
(下转第 42 页)

虽然 2008 年红花产量不大,但是由于 2007 年红花的产量较丰,并且除当年市场需求外,多转入库存。受 2008 年红花价格上涨刺激,云南产区扩大了种植面积。目前云南红花正值产新,新货尚未大量上市,价格出现小幅上扬。新疆产区播种即将开始,目前红花价格的上涨,是否会激发新疆药农种植热情?红花库存有量,新产区又不断在增加种植面积,望种植户不要被眼前价位迷惑。因为高价时种植的未必收获时就赶上好行情,应根据市场供求关系酌情发展种植。

菊花 自 2004 年以来行情较好,价格也稳中有升,2006~2007 年菊花价格多在 15 元以上浮动,2007 年在菊花新陈不接之际价格升至 20 元以上。

菊花春种秋收,一般每公顷产量 2 250kg,2006~2007 年种植菊花每公顷收入多在 3 万元以上,而且在亳州产区菊花地块还可以套种西瓜。种植户可以瓜果、药材双丰收,所以种植热情较高。目前菊花价格从 15 元以上大幅跌落至 8 元左右,正是由于菊花生产出现过剩所致。菊花已供大于求,估计,2008 年的新货到 2009 年产新前难以消化殆尽,种植户应控制种植规模,使之生产、销售处于健康发展之中。

草决明 生长周期较短,春夏种植,秋季采收,我国大部分地区均可发展种植。其产区主要

分布在河南东南及湖北西北部,山东、河北等地也有种植,安徽临泉、界首一带分布着大量的野生资源。

正常行情下草决明生产相对稳定,2005 年草决明受市场需求拉动,价格涨至 5 元左右。受涨价影响,2006 年草决明各大产区扩大种植面积,当年草决明产新后价格便一路走低,最低价落至 2.5 元左右。由于价格较低,有商便视价低购货囤积。2007 年草决明价格徘徊在 3 元上下,种植面积稍有调减,2008 年草决明种植面积在 2007 年的基础上增减不大。

据了解,近几年草决明需求有所下降。虽然自 2007 年草决明种植面积有所调减,但由于 2006 年积压的库存尚未得到良好消化,而且越南、缅甸等东南亚国家也是草决明主产地。如果草决明价格上涨,国外货源将冲击草决明市场。由于草决明库存压力较大,而且又有国外货源虎视眈眈。综合分析,2009 年草决明仍不宜大面积发展种植。

春季种植的药材还有:当归、党参、黄芪、怀牛膝、天花粉、山药、荆芥、天南星等品种。种植户不应随波逐流,盲目跟从别人种植。只有根据市场行情变化,及时调整种植方向,并根据市场需求科学合理发展药材种植,才能获得较好的收益。**TCM**

(上接第 34 页)

Determination of Four Active Compounds Alignment in Different Water Extract of Flos Trollii Chinensis by HPLC

Yang Jingfan^{1,2}, Zhang Guijun¹, Zhang Chunhui¹, Liu Mingming¹, Han Ru¹

(1. Beijing university of traditional Chinese medicine, Beijing 100102, China;

2. South China College of Life Science and Technology Institute, Hengyang Hunan 421001, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content and its ratios of four active compounds alignment in Flos Trollii chinensis extracts by different preparation method. **Methods:** Apply high performance liquid chromatography to determine. **Results:** the ratios of four active compounds alignment (orientoside- vitexin -2"-O-β-L-galactopyranosylorientin-veratric acid) in Flos Trollii chinensis extracts by different preparation method were respectively 3. 4:1. 0:10. 3:1, 3. 3:1. 1:9. 9:1 and 3. 4:1. 1:10. 6:1. **Conclusion:** The Ratios of four active compounds alignment in Flos Trollii chinensis extracts by different preparation method are relatively stable.

[Key words] Flos Trollii Chinensis; Active compounds alignment