

反相高效液相色谱法测定不同采收期连翘中连翘苷的含量

胡晖, 冷桂华, 邹盛勤*

(1. 江西工业贸易职业技术学院, 江西南昌 330100; 2. 宜春学院化学与生物工程学院, 江西宜春 336000; 3. 宜春学院生物工程研究所, 江西宜春 336000)

摘要 建立反相高效液相色谱(HPLC)法测定了不同采收期连翘中连翘苷的含量。色谱柱为Nucleodur C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(45:55, 体积比), 流速0.8 ml/min, 检测波长229 nm, 柱温25℃。连翘苷在0.452~4.520 μg(r=0.9999)范围内峰面积与进样量呈良好的线性关系, 平均回收率为99.6%, 相对标准偏差(RSD)为1.5%。该方法简便、准确, 可用于中药连翘的质量控制。

关键词 连翘; 连翘苷; 反相高效液相色谱(HPLC); 含量; 测定

中图分类号 O657.7+2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4221-02

Determination of Forsythinin Fructus forsythia of Various Collecting Periods with RP-HPLC

HU Hui et al (Jiangxi Vocational & Technical College of Industry and Trade, Nanchang, Jiangxi 330100)

Abstract The HPLC method for the determination of forsythin in Forsythia suspension was established. HPLC was carried out on Nucleodur C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at 25℃ based on the application of methanol-water (45:55) as mobile phase with a flowrate of 0.8 ml/min and the detected wavelength was 229 nm. Good linearity of forsythin was obtained over the ranges of 0.452~4.520 μg (r=0.9999). The average recovery rate of forsythin was 99.6% (RSD 1.5%). The method was simple, convenient and accurate and can be used for the quality control of Fructus forsythia.

Key words Fructus forsythia; Forsythin; HPLC; Content; Determination

连翘 [Forsythia suspense (Thunb.) Vahl] 主产于我国东北、华北、长江流域至云南等地, 其中以山西晋南、河南豫西所产为道地药材, 色泽鲜亮且质量佳^[1,2]。连翘苷为连翘的主要成分, 具有抗菌、抗病毒及强心, 抑制毛细血管通透性, 抗肝损伤等作用^[3]。笔者采用乙醇超声提取, 建立HPLC法测定了不同采收期连翘中连翘苷的含量, 方法简单快速, 灵敏准确, 重现性好, 为评价连翘的内在质量提供科学依据。

1 仪器、材料与试剂

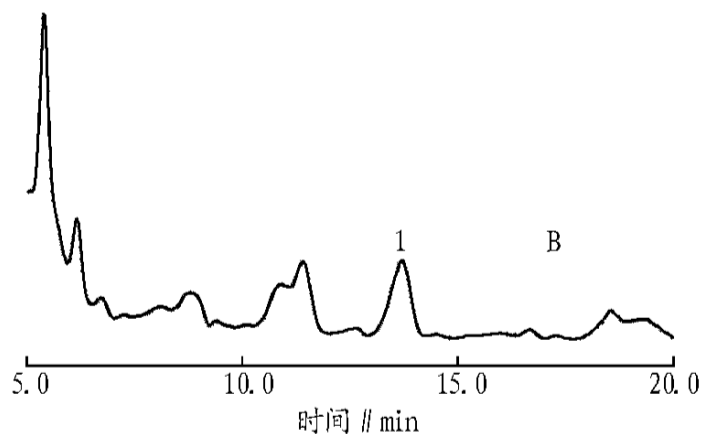
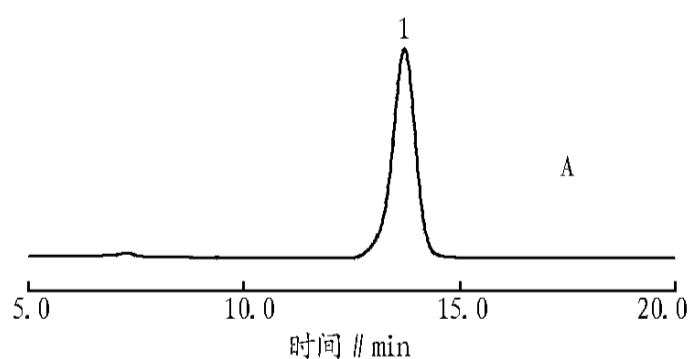
1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪(515 双泵, 2996 光电二极管阵列检测器, 7725I 进样阀), Empower 中文色谱工作站, RO MB10D 高纯水机(杭州永洁达膜分离设备厂), CP225D 分析天平(德国 Sartorius 公司), FWM00 型高速万能粉碎机(天津市泰斯

特仪器有限公司), KS 1500 超声提取仪器(宁波科盛仪器厂)。

1.2 材料与试剂 连翘(市售), 经鉴定为木犀科植物连翘 [Forsythia suspense (Thunb.) Vahl] 的干燥果实。甲醇(色谱纯, 上海陆忠试剂厂), 高纯水, 95% 乙醇(分析纯, 江西同盟试剂化工厂), 连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110821-200406, 供含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为Nucleodur C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(45:55, V/V); 流速为0.8 ml/min; 检测波长为229 nm; 柱温为25℃。外标法计算含量, 连翘苷理论塔板数大于3000, 连翘苷对照品溶液和连翘样品溶液的HPLC 色谱见图1。



注: A 为对照品; B 为样品; 1 为连翘苷。

图1 连翘苷对照品和连翘样品的HPLC 色谱

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的配制。精密称取干燥至恒重的连翘苷对照品2.26 mg, 置于10 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解定容, 得对照品溶液。

2.2.2 样品溶液的配制。取连翘样品干燥后粉碎, 精密称取3 g, 加入95% 乙醇溶液40 ml, 超声提取60 min, 冷却至室温, 过滤, 滤渣用乙醇洗涤2次, 合并过滤液于50 ml 容量瓶中, 用乙醇定容, 摇匀, 经0.45 μm 微孔滤膜过滤, 得样品

溶液。

2.3 线性关系试验 精密吸取对照品溶液2.6、10、15、20 μl, 按“2.1”色谱条件进样, 平行3次, 测定连翘苷峰面积, 以峰面积平均值(μV·s)对进样量(μg)进行线性拟合, 连翘苷的回归方程为 $Y = 2.36 \times 10^5 X + 1.87 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。表明连翘苷进样量在0.452~4.520 μg 时, 线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取连翘苷对照品溶液10 μl 进样, 重复5次, 测得连翘苷峰面积相对标准偏差(RSD)为0.4%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重现性试验 精密称取连翘样品5份, 制备样品溶液, 精密吸取10 μl 进样分析, 测得连翘苷峰面积的RSD为1.2% (n=5), 表明该方法重现性好。

作者简介 胡晖(1968-), 女, 江西吉安人, 硕士, 讲师, 从事食品工程教学与管理研究。* 通讯作者。

收稿日期 2006-04-25

2.6 加样回收率试验 精密称取已知连翘苷含量并干燥至恒重的药材5份,分别加入适量的连翘苷对照品,按“2.2.2”制备样品溶液,进样分析,连翘苷平均回收率为99.6%,RSD为1.5%(n=5)。

2.7 样品中连翘苷的含量测定 精密称取连翘样品约3g,制备样品溶液。精密吸取样品溶液10 μ l,分别进样,平行5次,测定样品中连翘苷峰面积,外标法计算含量。测定结果见表1。

表1 样品中连翘苷含量的测定结果(n=5)

编号	采收期	连翘苷含量 ng/g	RSD %
1	青翘	0.866	1.2
2	熟翘	1.452	0.9
3	老翘	0.584	0.7

3 讨论

3.1 样品提取方法的选择 在样品提取中,分别考察了回流提取和超声波提取,结果超声波提取60min即可将样品中连翘苷提取完全,且样品中杂质少于回流提取法,故该试验采用超声波提取方法。

3.2 检测波长的确定 取连翘苷对照品溶液进样,采用光电二极管阵列检测器在波长190~500nm范围进行光谱扫描,其最大吸收波长分别为202.2、229.2和277.6nm(图2),但由于流动相在短波长处有末端吸收,为了减少干扰,提高信噪比,提取不同波长的色谱图进行比较,选择229nm为检测

波长,信噪比高,谱图分离较好,且基线平稳无干扰^[4]。

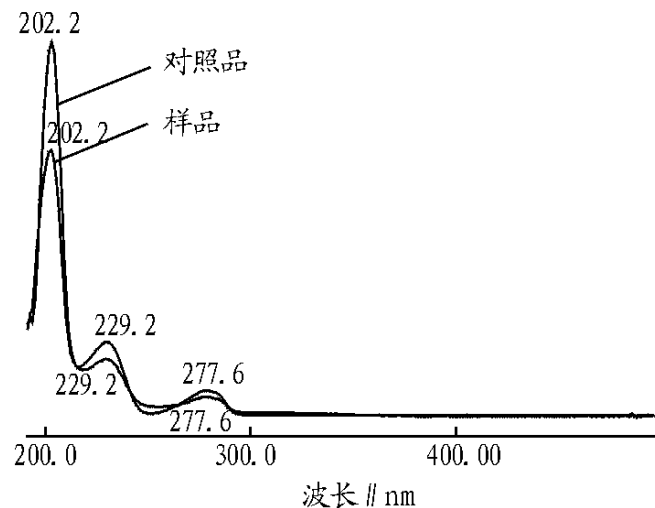


图2 连翘苷对照品和样品的紫外吸收光谱

3.3 不同采收期对连翘中连翘苷含量的影响 对不同采收期连翘中连翘苷的含量检测结果表明,熟翘中连翘苷的含量高于青翘和老翘,老翘中的含量最低,采收期对连翘中连翘苷的含量影响较大。连翘苷是连翘的主要活性成分,为保证药材的质量,应在连翘果实成熟时采收为最佳。

参考文献

- [1] 李英霞,孟庆梅.连翘的本草考证[J].中药材,2002,25(6):435-437.
- [2] 张海燕.连翘化学成分及药理活性的研究进展[J].中药材,2000,23(10):657-660.
- [3] 陈玉俊,项进,许美娟,等.连翘化学成分的研究[J].中国中药杂志,1999,24(5):296.
- [4] 韩桂茹,庞国勋.连翘苷检测波长的研究[J].中国药品标准,2005,6(3):71-73.