

红腺忍冬的质量研究*

彭维¹, 黄琳², 关倩怡¹, 林青², 梁峰¹, 苏薇薇¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广东 广州 510515)

摘要: 采用薄层色谱法对红腺忍冬进行了定性鉴别; 用高效液相色谱法同时测定绿原酸和咖啡酸的含量, 色谱柱为 Dikma PLATISIL ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 0.4% (w) 磷酸溶液 (pH ≈ 2.5) (12: 88), 检测波长 327 nm。结果显示绿原酸加样回收率为 99.6%、RSD 为 2.16%, 咖啡酸加样回收率为 101.1%、RSD 为 3.26%。该方法可用于红腺忍冬药材的质量控制。

关键词: 红腺忍冬; 绿原酸; 咖啡酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R961 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 06-0142-03

Study on the Quality Control of *Lonicera hypoglauca* Miq.

PENG Wei¹, HUANG Lin², GUAN Qianyi¹, LIN Qing², LIANG Feng¹, SU Weiwei¹

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangzhou Baiyunshan Hutchison Whampoa Traditional Chinese Medicine Co, Ltd, Guangzhou 510515, China)

Abstract: In this paper, *Lonicera hypoglauca* Miq. was identified by TLC, chlorogenic acid and caffeic acid were determined by HPLC. The chromatographic column was Dikma PLATISIL ODS (250 × 4.6 mm, 5 μm), gradient elution with acetonitrile and 0.4% phosphoric acid (pH ≈ 2.5) (12: 88) was applied and the detection wavelength was 327 nm. The recovery of chlorogenic acid was 99.6% with RSD 2.16%, and the recovery of caffeic acid was 101.1% with RSD 3.26%. The established method can be used for quality control of *Lonicera hypoglauca* Miq.

Key words: *Lonicera hypoglauca* Miq.; chlorogenic acid; caffeic acid; TLC; HPLC

红腺忍冬为忍冬科植物 *Lonicera hypoglauca* Miq. 的干燥花蕾或带初开的花, 收载于《中华人民共和国药典》2005年版一部^[1], 具有清热解毒、凉散风热的作用, 用于治疗痈肿疔疮、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温热发病等症^[1]。笔者对红腺忍冬的质量进行了深入研究, 采用薄层色谱法进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法同时测定绿原酸、咖啡酸的含量, 现报道如下。

1 仪器与试剂

Dionex P680 型高效液相色谱仪 (美国戴安公司, 四元梯度泵、自动进样器、PDA-100 检测器

及 Chromeleon 工作站); BP211D 电子分析天平 (瑞士沙多利斯公司); T660/H 超声波清洗器 (美国埃玛公司)。

10 批红腺忍冬均产于湖南隆回, 由广州白云山和记黄埔中药有限公司提供, 经中国科学院华南植物园华南植物鉴定中心叶华谷研究员鉴定为忍冬科植物红腺忍冬 *Lonicera hypoglauca* Miq. 的干燥花蕾或带初开的花。绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号 110753-200413); 咖啡酸对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号 110885-200102)。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 甲醇、甲酸均为分析纯。

* 收稿日期: 2009-09-23

基金项目: 广东省科技计划资助项目 (2010B050100013)

作者简介: 彭维 (1971年生), 女, 副主任药师; 通讯作者: 苏薇薇; E-mail: lsssw@126.com

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

取红腺忍冬药材粉末 0.2 g, 加甲醇 5 mL, 放置 12 h, 滤过, 滤液作为供试品溶液。取绿原酸、咖啡酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的溶液, 作为混合对照品溶液。照薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液、对照品溶液各 5 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(体积比为 7:2.5:2.5) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果表明: 10 批红腺忍冬供试品色谱中, 在与绿原酸、咖啡酸对照品色谱相应的位置上, 显相同的蓝色荧光斑点(图 1)。

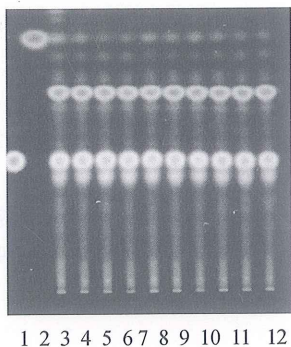


图 1 红腺忍冬薄层色谱

Fig. 1 TLC of *Lonicera hypoglauca* Miq.

1: 绿原酸, 2: 咖啡酸, 3~12: 红腺忍冬药材供试品

2.2 HPLC 法同时测定红腺忍冬中绿原酸和咖啡酸的含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Dikma PLATISIL ODS C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈-0.4% (w) 磷酸溶液 (pH \approx 2.5) (体积比 12:88), 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 327 nm, 柱温: 30 $^{\circ}$ C。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥至恒质量的绿原酸和咖啡酸对照品适量, 置棕色瓶中, 加入 $\varphi = 50\%$ 甲醇溶液制成每 1 mL 含绿原酸 42.4 μ g、咖啡酸 9.28 μ g 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取红腺忍冬药材粉末(过四号筛) 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 $\varphi = 50\%$ 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 35 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 $\varphi = 50\%$ 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 25 mL 棕色

量瓶中, 加 $\varphi = 50\%$ 甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 线性及线性范围 取上述对照品溶液, 按 2.2.1 色谱条件, 分别进样 0.5、5、10、15、20 μ L, 以峰面积积分值 A 对对照品的进样量 C (μ g) 进行回归分析, 得咖啡酸线性回归方程: $A = 0.02598C + 0.00176$, 相关系数 $r = 0.9999$; 绿原酸线性回归方程: $A = 0.01845C + 0.000843$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。结果表明绿原酸量在 0.0212 ~ 0.8480 μ g 范围内与峰面积线性关系良好; 咖啡酸量在 0.00464 ~ 0.18560 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取咖啡酸、绿原酸对照品混合溶液 10 μ L, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 测得咖啡酸、绿原酸峰面积的 RSD 分别为 0.86%、0.51%, 表明该法精密度好。

2.2.6 稳定性试验 取供试品溶液于室温下分别放置 0、3、6、12、24、48 h 后, 分别进样 10 μ L, 测定峰面积, 计算绿原酸、咖啡酸峰面积的 RSD 分别为 1.33%、0.53%, 表明稳定性好。

2.2.7 重现性试验 精密称取同一批号(0707005) 的样品粉末 6 份, 分别按供试品溶液制备方法平行操作, 精密吸取供试品溶液各 10 μ L, 分别注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算含量。绿原酸、咖啡酸平均含量分别为 3.10%、0.18%, RSD 分别为 1.65%、2.31% ($n = 6$), 表明方法重现性好。

2.2.8 加样回收试验 精密称取已测知绿原酸、咖啡酸含量的样品适量, 分别精密加入一定量的对照品, 按供试品溶液的制备及色谱条件操作, 计算加样回收率, 结果咖啡酸、绿原酸的平均回收率分别为 99.6% 及 101.1% ($n = 6$), RSD 分别为 2.16% 及 3.26% ($n = 6$)。

2.2.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以外标一点法计算绿原酸及咖啡酸的含量。结果见图 2、表 1。

3 讨论

有关红腺忍冬的成分分析, 文献报道如下: 邓玲姣等^[2] 采用紫外分光光度法测定红腺忍冬花蕾、茎及叶中绿原酸含量, 分别为 3.36%、1.99% 及 6.55%; 辛宁等^[3] 采用高效液相色谱法测定广西红腺忍冬中绿原酸含量, 分别为 2.54% ~ 5.37%。本文采用 HPLC 法同时测定红腺忍冬中绿原酸和咖啡酸的含量, 这在国内未见文献报道。

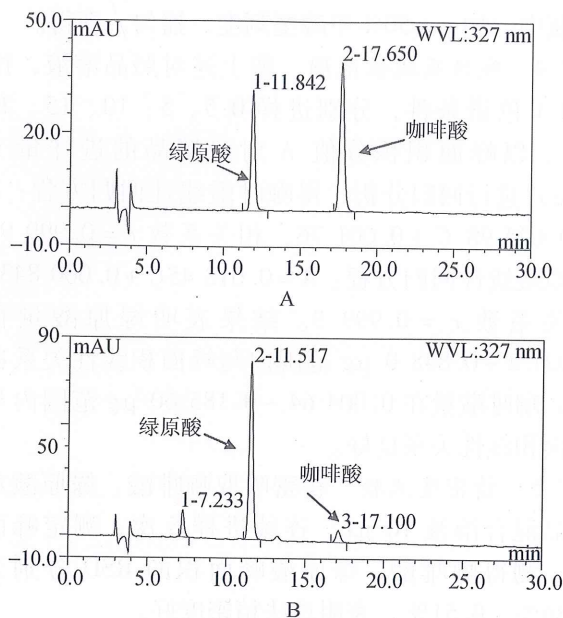


图 2 混合对照品 (A) 及红腺忍冬 (B) 高效液相色谱
Fig. 2 HPLC of chlorogenic acid and caffeic acid (A);
Samples of *Lonicera hypoglauca* Miq. (B)

本研究采用薄层色谱法对红腺忍冬进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法同时测定 10 批红腺忍冬中绿原酸和咖啡酸的含量, 能更加客观地评价红腺忍冬药材的质量。

表 1 红腺忍冬中绿原酸及咖啡酸的含量

Table 1 Contents of chlorogenic acid and caffeic acid in
Lonicera hypoglauca Miq.

样品批号	w (绿原酸) /%	w (咖啡酸) /%
0706001	2.41	0.16
0707002	3.14	0.11
0707003	3.30	0.21
0707004	3.02	0.22
0707005	3.10	0.18
0707006	3.47	0.20
0707007	3.48	0.13
0707008	3.86	0.10
0707009	3.17	0.14
0707010	3.25	0.16

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会编. 中国药典: 一部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 21.
- [2] 邓玲姣, 周晓舟, 黄素梅, 等. 忻城县金银花及其茎、叶中绿原酸含量测定 [J]. 广西农学报, 2007, 22(5): 34-36.
- [3] 辛宁, 王柳萍, 张守平, 等. HPLC 法测定广西红腺忍冬中绿原酸含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 849-851.

(上接第 138 页)

参考文献:

- [1] 林永成. 海洋微生物及其代谢产物 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [2] 李春远, 杨瑞云, 林永成, 等. 海洋真菌 K38 号代谢产物的研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(1): 67-70.
- [3] LI C Y, YANG R Y, LIN Y C, et al. A new nonadride derivative from mangrove fungus (strain No. k38) [J]. J Asian Natural Products Research, 2007, 9(3): 285-291.
- [4] 李春远, 余志刚, 林永成, 等. 红树林真菌 E33 代谢产物的分离及衍生物的制备 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(6): 52-54.
- [5] LI C Y, DING W J, SHE Z G, et al. A new biphenyl derivative from an unidentified marine fungus E33 [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2008, 44(2): 163-165.
- [6] 李春远, 丁唯嘉, 陈敏, 等. 来自红树林内生真菌 #E33 中的一个新的水杨酸衍生物 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2008, 47(1): 121-122.
- [7] AYER W A, LU P P, ORSZANSKA H, Deoxyscytalidin and lignicol: new metabolites from scytalidium species [J]. J Natural Products, 1993, 56(10): 1835-1838.
- [8] 杨世林, 杨学东, 刘江云. 天然产物化学研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 670.
- [9] CAPASSO R, EVIDENTE A, CUTIGNANO A, et al. Fusaric and 9, 10-dehydrofusaric acids and their methyl esters from *Fusarium nygamai* [J]. Photochemistry, 1996, 41(4): 1035-1039.
- [10] KIMURA Y, NAKAJIMA H, HAMASAKI T, et al. Sescandelin, a new root promoting substance produced by the fungus, *Sesquicillium candelabrum* [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1990, 54(9): 2477-2479.