

# 黄花忍冬花中绿原酸的提取及含量的测定

于加平, 蔡金玲

(吉林农业科技学院 生物工程学院, 吉林 吉林 132101)

**摘要:** 采用索氏提取法提取黄花忍冬花中绿原酸并用 HPLC 法测定其中的含量。SHIMADZU C18(4.6 mm×150 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈-0.5% 磷酸溶液为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 327 nm。结果表明: 绿原酸在 0.232~3.48 μg 呈现良好的线性关系, 黄花忍冬花中绿原酸含量 3.5% (RSD=0.141%, n=5), 平均回收率为 100.105%, RSD=1.05%。该方法经济、简便、快速、准确、可靠。

**关键词:** 黄花忍冬花; 绿原酸; 高效液相色谱; 含量测定

**中图分类号:** Q 94-334 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0088-02

忍冬属是忍冬科中较大的属之一, 现知全世界约有 200 种, 我国约 100 种, 广布于全国各省区, 以西南、华中地区种类最为繁多。<sup>[1]</sup> 其中黄花忍冬 (*Lonicera chrysantha*) 也是其中一个种, 主要分布于华北、东北、西北。该属植物多为直立或攀援状灌木, 许多忍冬可供药用。绿原酸成分一直被认为是忍冬中的主要有效成分, 是植物体内有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物, 现代药理研究表明, 其具有抗菌抗病毒作用外<sup>[2]</sup>, 还有保肝利胆、止血、抗氧化、抗生育等作用<sup>[3]</sup>。目前, 有关黄花忍冬花中的绿原酸的提取及含量研究尚未见报道。该试验采用 70% 的甲醇作溶剂<sup>[4]</sup>, 用索氏提取法对黄花忍冬花中绿原酸进行提取, 高效液相色谱法对绿原酸进行检测和含量的测定。结果表明, 在黄花忍冬花中含有绿原酸, 且其含量较高。为黄花忍冬的药用开发和综合利用提供理论依据。

## 1 仪器、试剂及试验材料

### 1.1 仪器

岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(真空脱气机, 进样器, 柱温箱, 紫外检测器), SHIMADZU 工作站, 岛津色谱柱(4.6×150 mm, 5μ, C18)。索氏提取器(上海洪纪仪器设备有限公司), ESJ205-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司)。

### 1.2 试剂

乙腈为天津市福晨化学试剂厂生产, 色谱纯, 超纯水, 磷酸为沈阳市新化试剂厂提供, 分析纯; 绿原酸对照品购自中国制药生物制品检定所, 批号 110753-200212。

第一作者简介: 于加平(1973-), 男, 吉林省吉林人, 讲师, 现从事分析化学和天然产物的提取方面的教学与研究工作。E-mail: yujiaping0607@tom.com。

收稿日期: 2008-10-29

### 1.3 试验材料

黄花忍冬花: 采于吉林农业科技学院校园内, 经专家鉴定为黄花忍冬的花, 经阴干、低温烘干处理为干品。

## 2 方法与结果

### 2.1 黄花忍冬花中绿原酸的提取

将干燥的黄花忍冬花用研钵研碎, 称取 10 g, 用滤纸包好, 置于索氏提取器中, 取 70% 的甲醇溶液 80 mL, 先往索氏提取器中加 70% 的甲醇至与虹吸管相平, 剩余液体加入圆底烧瓶中, 对样品浸泡 2 h, 然后在水浴锅上加热回流至无色, 控制温度在 70℃ 左右。把回流液倒于蒸馏瓶中进行减压蒸馏至 30 mL, 超声溶解, 过滤, 装于棕色具塞管中, 得待测液, 放于冰箱中待用。

### 2.2 绿原酸的检测

2.2.1 色谱条件 4.6 mm×150 mm 的 SHIMADZU 色谱柱, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 填料粒度为 5 μ; 乙腈-0.5% 磷酸溶液(10:90)为流动相; 检测波长为 327 nm; 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 25℃。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 4 000。

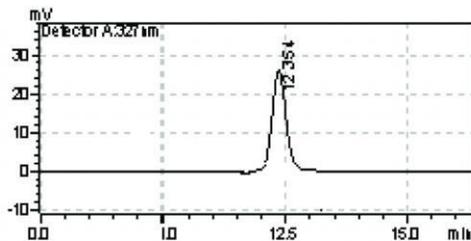
2.2.2 绿原酸对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 5.800 mg, 置 25 mL 容量瓶中, 加甲醇超声溶解并稀释至刻度, 摇匀, 0.2 μm 滤膜过滤, 取滤液即得, 浓度为 0.232 mg/mL

2.2.3 黄花忍冬花中绿原酸的检测 取 2.2.2 的标品溶液 3 μL 和 2.1 提取液 5 μL(经 0.2 μm 滤膜过滤), 按上述色谱条件分别进样分析, 平行进样 6 次, 得色谱图(图 1), 6 次得到相同的色谱图, 说明结果准确, 证实样品中含有绿原酸。

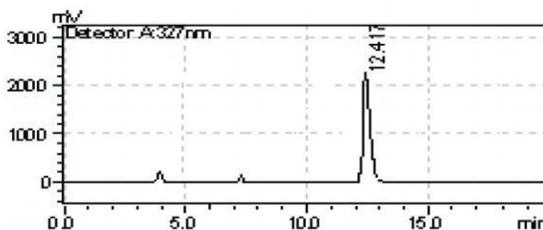
### 2.3 黄花忍冬花中绿原酸的含量测定

2.3.1 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液(0.236 mg/mL)1.0、3.0、5.0、7.0、10.0、15.0 μL 进样, 记录色谱图, 以绿原酸对照品的进样量为横坐标, 积分峰面积值

为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程  $Y = 1925725X - 28103$ , 相关系数  $r = 0.9998 (n = 5)$ 。绿原酸在  $0.232 \sim 3.48$   $\mu\text{g}$  范围内呈现良好线性关系。



绿原酸标品的色谱图



黄花忍冬花中绿原酸的色谱图

图1 绿原酸对照品与黄花忍冬花样品 HPLC 色谱图

2.3.2 稳定性试验 取对照品溶液分别于配制后 0、1、2、4、8、12 h, 取续滤液  $5 \mu\text{L}$  注入色谱仪, 记录色谱图, 考察溶液放置后峰面积的变化情况, RSD 为 0.18%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.3 精密度试验 取对照品溶液  $5 \mu\text{L}$ , 连续重复进样 5 次 记录色谱图, 考察峰面积的变化情况, RSD 为 2.366%, 表明该含量测定方法精密度良好。结果见表 1。

表 1 精密度试验 ( $n = 5$ )

编号	1	2	3	4	5	RSD%
测得峰面积	2176068	2176066	2176068	2176070	2176063	2.366

2.3.4 回收率试验 精密称定已测定含量的黄花忍冬花 5 份, 每份约  $1.0 \text{ g}$ , 精密称定, 按 2.1 方法提取后精密加入绿原酸对照品  $0.89 \text{ mg}$ , 经  $0.2 \mu\text{m}$  滤膜过滤, 进样, 测定峰面积。计算平均回收率为 100.105%, RSD 为 1.05%, 结果见表 2。

表 2 回收率的测定 ( $n = 5$ )

编号	取样量 / g	样品含量 / mg	加入对照品量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %	相对标准偏差 / %
1	1.325	36.13	0.89	36.99	99.919	100.105	1.05
2	1.007	35.02	0.89	36.13	100.613		
3	1.164	35.57	0.89	36.72	100.713		
4	1.037	35.13	0.89	35.89	99.639		
5	1.061	35.21	0.89	35.97	99.640		

## 2.4 样品含量的测定

取 2.1 制备的黄花忍冬花提取液  $10 \mu\text{L}$  (经  $0.2 \mu\text{m}$  滤膜过滤), 平行进样 5 次, 得色谱图, 按外标法进行计算

样品中绿原酸的含量, 测得绿原酸平均含量为 3.50%。结果见表 3。

表 3 样品含量测定 ( $n = 5$ )

编号	1	2	3	4	5	平均含量	RSD / %
测得含量 / %	3.4	3.5	3.7	3.6	3.3	3.5	0.141

## 3 讨论

黄花忍冬多数为城市的绿化树种, 其花目前都被废弃, 黄花忍冬的花是一种很有价值的药用资源。我国黄花忍冬资源极其丰富, 因此要对其进行开发研究, 使之得到合理的应用。试验采用索氏提取法对黄花忍冬花中绿原酸进行提取, 经高效液相色谱法进行检测, 分析研究证实黄花忍冬花中含有绿原酸, 经外标法测定其含量为 3.50%, 这为黄花忍冬花的药用开发奠定了理论基础。绿原酸是一种对热敏感的化合物, 在提取的过程中应注意温度的控制, 提取温度最好不要高于  $75 \text{ }^\circ\text{C}$ , 否则对提取结果会有很大的影响。

### 参考文献

- [1] 李会军, 李萍. 忍冬花蕾的化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(3): 29-32.
- [2] 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 177.
- [3] 邢俊波, 李萍. 忍冬属化学成分研究概况及展望[J]. 中药材, 1999, 22(7): 366-370.
- [4] 林廷龙, 葛渝, 刘志海. HPLC 法测定黄褐毛忍冬中绿原酸的含量[J]. 中国药事, 2008, 22(3): 228-239.

## Extraction of Chlorogenic Acid in *Lonicera chrysantha* Flower and its Determination

YU Jia-ping, CAI Jin-ling

(College of Bio-engineering, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jilin 132101, China)

**Abstract:** The chlorogenic acid in *Lonicera chrysantha*'s flower was extracted with Soxhlet extraction and the determination was done with HPLC. The HPLC system consisted of column of SHZMADZU C18 ( $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ) column and acetonitrile- $0.5\% \text{ H}_3\text{PO}_4$  as the mobile phase. The flow rate was  $1.0 \text{ mL/min}$ . The detection wavelength was  $327 \text{ nm}$ . The method was linear with in range of  $0.232 \sim 3.48 \mu\text{g}$ . Chlorogenic acid in the flower of *Lonicera chrysantha*  $3.5\%$  (RSD=0.141%,  $n=5$ ), and the average recovery was  $100.105\%$ , RSD=1.05%. The method was simple, sensitive, quick and highly reproductive.

**Key words:** *Lonicera chrysantha* of flower; Chlorogenic acid; HPLC; Determination