

HPLC 测定川西合耳菊中黄酮类和酚酸类药效成分的含量

雷 鑫¹, 蔡璐瑶¹, 陈 蓉^{2*}, 黄世伟¹, 张 俊¹, 吴 恒¹, 龙 飞¹, 吕光华^{1,2*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137

摘 要: **目的** 建立藏药川西合耳菊 *Synotis solidaginea* 中黄酮类和酚酸类药效成分含量测定的方法, 并评价不同产地、不同部位样品的质量。 **方法** 建立 HPLC 测定川西合耳菊中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 种有效成分含量的方法。从西藏、四川和青海收集了 19 份川西合耳菊药材样品; 将全株植物分成茎、叶、花 3 个部位, 测定这些样品中 8 种成分的含量。运用主成分分析法比较不同产地药材中的药效成分, 以及植物不同部位之间和同一部位不同产地样品之间差异。 **结果** 这 8 种药效成分在 40 min 内分离良好, 加样回收率为 96.3%~104.9%。19 份川西合耳菊样品中 3 种酚酸类成分的总量为 5 种黄酮类成分总量的 2.77 倍。酚酸类以绿原酸的含量最高 (9.74 mg/g); 黄酮类以芦丁的含量最高 (3.65 mg/g)。根据药效成分含量和主成分分析, 四川道孚的样品质量更好。植物 3 个部位之间比较, 总量以叶中含量最高, 占 59.15%~65.61%; 其次为花, 占 30.52%~34.31%; 茎中的含量最低, 仅占 3.9%~5.7%。金丝桃苷在花中的含量高, 而其他 7 种成分在叶中的含量最高。 **结论** 建立的方法能准确测定川西合耳菊中 5 种黄酮类和 3 种酚酸类成分的含量, 评价其质量。川西合耳菊叶和花的药效成分含量高, 应于开花期、叶茂盛时采集, 并防止叶和花脱落, 以保证质量。

关键词: 川西合耳菊; HPLC; 芦丁; 金丝桃苷; 异槲皮苷; 烟花苷; 紫云英苷; 绿原酸; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)08-2414-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.08.026

Determination of bioactive compounds belonging to flavonoids and phenolic acids in *Synotis solidaginea* by HPLC

LEI Xin¹, CAI Lu-yao¹, CHEN Rong², HUANG Shi-wei¹, ZHANG Jun¹, WU Heng¹, LONG Fei¹, LYU Guang-hua^{1,2}

1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To develop a method for quantifying the bioactive compounds belonging to the types of flavonoids and phenolic acids in the herb of *Synotis solidaginea*, and to assess the quality of this herbal samples among different cultivating areas and plant parts. **Methods** An HPLC method was developed to quantify the amounts of eight bioactive compounds, i.e. rutin, hyperoside, isoquercitrin, nicotiflorin, astragaln, chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C in this herb. A total of 19 herbal samples were collected from Tibet, Sichuan, and Qinghai in China. The whole plant was divided into three parts including stem, leaf, and flower. The amounts of the eight bioactive compounds in these samples were quantified. Principal component analysis (PCA) was used to compare the bioactive compounds in this herbal samples among different cultivating areas, various plant parts and same plant parts collected from different cultivating areas. **Results** The eight peaks of these bioactive components were separated well within 40 min. The recoveries of the eight compounds were 96.3%—104.9%. The total amount of three phenolic acids in 19 herbal samples was 2.77 folds of five flavonoids. The content of chlorogenic acid was the highest in

收稿日期: 2020-12-21

基金项目: 四川高校科研创新团队建设计划项目 (18TD0017); 四川省药品监督管理局中药 (民族药) 标准提升项目 (510201201904914); 成都中医药大学杏林学者学科人才科研提升计划项目 (CXTD2018018)

作者简介: 雷 鑫 (1995—), 男, 硕士研究生, 从事中药品种、品质及资源研究。Tel: 17844597995 E-mail: 1032332793@qq.com

*通信作者: 吕光华, 教授, 博士生导师, 主要从事中药/民族药鉴定及资源利用。Tel: (028)61800066 E-mail: lughcd@aliyun.com

陈 蓉, 讲师, 硕士生导师, 主要从事民族药鉴定研究。Tel: (028)61801093 E-mail: chenrong@cdutcm.edu.cn.

phenolic acids (9.74 mg/g). The highest content among flavonoid compounds was rutin (3.65 mg/g). Both the content of bioactive components and the result of PCA indicated that the quality of herbal samples collected from Daofu of Sichuan was best among the three cultivation areas. Comparing the total amounts of eight bioactive compounds among the three parts of this plant, leaf was top one accounting for 59.15%—65.61%, flower was second accounting for 30.52%—34.31%, stem was third only accounting for 3.9%—5.7%. More amount of hyperoside was found in flowers, whilst the other seven components were found in high levels in leaves. **Conclusion** The developed method is accurate to quantifying the levels of five flavonoids and three phenolic acids in this herb and can be used to assess its quality. The leaves and flowers of this herb contain high amount of bioactive components. This herb should be harvested during flowering and flourishing leaves. Moreover, the leaves and flowers should be prevented from lost for quality assurance.

Key words: *Synotis solidaginea* (Hand. -Mazz.) C. Jeffrey et Y. L. Chen; HPLC; rutin; hyperoside; isoquercitrin; nicotiflorin; astragalin; chlorogenic acid; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C

常用藏药叶格兴嘎保来源于菊科植物川西合耳菊 *Synotis solidaginea* (Hand. -Mazz.) C. Jeffrey et Y. L. Chen 的干燥地上部分, 具有清肝胆诸热、清热解毒的功效, 主治伤口发炎、肿胀、急性结膜炎、疮痈、皮炎等疾病^[1-2]。川西合耳菊主要分布于西藏东部和四川西部海拔 2900~3900 m 高原地区, 于夏季至秋季开花期采收野生植物的地上部分入药^[3], 药材的质量差异很大, 目前没有质量标准。

现代研究表明, 川西合耳菊含黄酮类、酚酸类、倍半萜类等化学成分^[4-7]。其中黄酮类成分异槲皮苷、金丝桃苷、芦丁、紫云英苷、烟花苷和酚酸类成分绿原酸、异绿原酸等具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗衰老、抗抑郁、抗氧化等药理作用^[8-15], 与该藏药的清热解毒功效相符, 可作为该药材质量评价的指标性成分。

目前, 对川西合耳菊中药效成分的含量测定主要集中于黄酮类。蔡霞等^[16]采用 HPLC 测定了川西合耳菊中绿原酸、金丝桃苷和木犀草苷的含量。王伟玲等^[17]采用 HPLC 测定了红缨合耳菊中绿原酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷等成分。然而, 未见川西合耳菊中异绿原酸 A、异绿原酸 C 的含量测定报道。同时, 二者均选择 350 nm 为检测波长。由于黄酮类化合物的乙醇溶液在 200~400 nm 有 2 个主要的吸收带, 即峰带 I (300~400 nm) 及峰带 II (220~280 nm), 350 nm 不是最大吸收波长。

为此, 本实验通过优化色谱条件, 建立了 HPLC 同时测定川西合耳菊中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、绿原酸、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 8 种有效成分含量的方法; 并从四川、西藏、青海不同产地或药材市场收集了 19 份川西合耳菊样品, 将药材分为茎、叶、花不同部位, 测定和比较这 8 种药效成分在不同产地和不同部位之间的差

异, 以期为川西合耳菊的质量评价、采收、加工等提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器

Dionex Ulti-Mate 3000 高效液相色谱仪 (包括四元泵处理器、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器以及 Chromeleon7 色谱工作站, 美国赛默飞公司); KH-250DB 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); HC-2518 型高速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); PHS-3C+ 智能酸度计 (成都世纪方舟科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

芦丁 (批号 CHB190110)、异槲皮苷 (批号 CHB180628)、烟花苷 (批号 CHB190102)、紫云英苷 (批号 CHB181115)、绿原酸 (批号 CHB190121)、异绿原酸 A (批号 CHB180921)、异绿原酸 C (批号 CHB180925) 均购于成都克洛玛生物科技有限公司; 金丝桃苷 (批号 PS011441) 购于成都普思生物科技股份有限公司, 质量分数均大于 98%。乙醇为分析纯, 甲酸、乙腈均为色谱纯, 购于成都市科隆化学品有限公司。超纯水由默克 Milli-Q Reference 超纯水系统制备。

1.3 样品

19 份川西合耳菊样品分别从西藏、四川和青海采收 (表 1), 由成都中医药大学吕光华教授鉴定为菊科植物川西合耳菊 *S. solidaginea* (Hand. -Mazz.) C. Jeffrey et Y. L. Chen 的干燥地上部分。

2 方法

2.1 样品处理

将 12 份花、叶较多的药材全株样品分为茎、叶、花 3 个部位; 所有采集样品阴干后, 与从药材市场上购买的样品, 分别粉碎, 过三号筛, 待用。

表 1 川西合耳菊样品的来源及收集时间

Table 1 Cultivating areas and collecting time of samples of *S. solidaginea*

样品编号	来源	采收时间
1	西藏拉萨城关区当巴乡	2019-07
2	西藏自治区工布江达县巴河镇	2019-08
3	西藏自治区米林县米林镇	2019-08
4	西藏自治区米林县里龙乡	2020-08
5	西藏自治区林芝县米瑞乡	2019-08
6	西藏拉萨藏药材市场	2020-07
7	四川道孚县瓦日镇	2020-08
8	四川道孚县瓦日镇	2020-08
9	四川道孚县格西乡	2020-08
10	四川道孚县格西乡	2020-08
11	四川道孚县麻孜乡	2020-08
12	四川道孚县麻孜乡	2020-08
13	四川茂县回龙乡	2019-07
14	四川茂县叠溪镇	2019-08
15	四川茂县曲谷乡	2019-07
16	四川茂县曲谷乡	2020-10
17	四川茂县松坪沟乡	2020-10
18	四川茂县松坪沟乡	2020-10
19	青海西西藏药材市场	2019-07

2.2 供试品溶液的制备

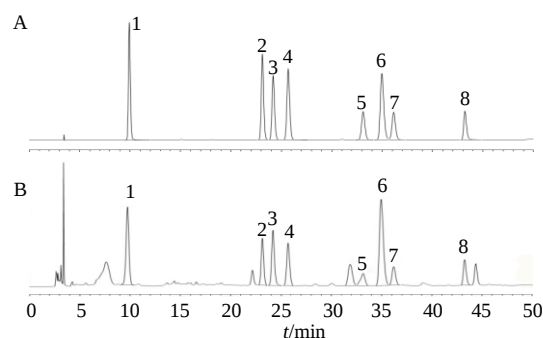
精密称取川西合耳菊样品粉末 1.0 g, 置于 100 mL 的锥形瓶中, 加 70%乙醇 20 mL, 称定质量; 超声 (700 W、40 kHz) 提取 85 min, 称定质量; 加 70%乙醇补足损失的质量, 摇匀。吸取上清液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 滤液即为供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸 10.0 mg、芦丁 5.0 mg、金丝桃苷 2.0 mg、异槲皮苷 2.0 mg、烟花苷 1.0 mg、异绿原酸 A 10.0 mg、紫云英苷 1.0 mg、异绿原酸 C 3.0 mg 置于 10 mL 量瓶中, 加 70%乙醇溶解, 定容至刻度, 摇匀, 即得到 1.0 mg/mL 绿原酸、0.5 mg/mL 芦丁、0.2 mg/mL 金丝桃苷、0.2 mg/mL 异槲皮苷、0.1 mg/mL 烟花苷、1.0 mg/mL 异绿原酸 A、0.1 mg/mL 紫云英苷、0.3 mg/mL 异绿原酸 C 的对照品混合溶液。

2.4 色谱条件

色谱柱为 Ultimate C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A)-0.2%甲酸水溶液 (pH 值 2.56, B), 洗脱梯度 (0~8 min, 11% A; 8~10 min, 11%~16% A; 10~25 min, 16% A; 25~36 min, 16%~18% A; 36~40 min, 18%~20% A; 40~50 min, 20%~24% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 265 nm; 进样量 10 μL 。在此条件下, 川西合耳菊样品中这 8 种药效成分的色谱峰分离良好 (图 1)。



1-绿原酸 2-芦丁 3-金丝桃苷 4-异槲皮苷 5-烟花苷 6-异绿原酸 A
7-紫云英苷 8-异绿原酸 C

1-chlorogenic acid 2-rutin 3-hyperoside 4-isoquercitrin 5-nicotiflorin
6-isochlorogenic acid A 7-astragalin 8-isochlorogenic acid C

图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of references (A) and sample (B)

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 吸取上述 8 个成分的对照品混合溶液 0.1、0.5、1、2、3、4、5 mL 置于 5 mL 量瓶中, 加 70%乙醇定容至刻度, 摇匀, 得到 7 个质量浓度梯度的对照品混合溶液。再依选定的色谱条件进样 (10 μL), 测定各成分的峰面积。以质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积为纵坐标 (Y), 计算回归方程 (表 2)。这 8 种成分的相关系数 (R^2) 在 0.999 1~0.999 9。

表 2 8 种药效成分的线性范围

Table 2 Linear ranges of eight bioactive compounds

成分	回归方程	R^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
绿原酸	$Y=117.48 X-0.438 2$	0.999 9	20~1000
芦丁	$Y=301.36 X-0.775 3$	0.999 9	8~400
金丝桃苷	$Y=370.63 X-0.169 2$	0.999 9	4~200
异槲皮苷	$Y=435.78 X-0.233 4$	0.999 9	4~200
烟花苷	$Y=286.5 X-0.123 8$	0.999 9	2~100
异绿原酸 A	$Y=131.09 X-0.197 6$	0.999 1	20~1000
紫云英苷	$Y=418.35 X-0.038 7$	0.999 9	2~100
异绿原酸 C	$Y=133.33 X-0.086 9$	0.999 1	6~300

2.5.2 精密度试验 取 1 份对照品混合溶液, 连续进样 6 次, 测定这 8 种成分色谱峰的峰面积。绿原酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、异绿原酸 A、紫云英苷、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 值分别为 0.59%、0.92%、0.92%、0.93%、0.92%、0.94%、0.91%、0.97%。

2.5.3 稳定性试验 取 1 份供试品溶液(5 号样品), 分别在制备后 1、4、8、12、16、20、24 h 进样测定, 计算这 8 种成分色谱峰峰面积的 RSD 值。绿原酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、异绿原酸 A、紫云英苷、异绿原酸 C 的 RSD 值分别为 0.45%、1.18%、1.54%、0.60%、0.52%、0.90%、1.51%、0.99%。

2.5.4 重复性试验 称取同一份川西合耳菊样品粉末 1.0 g, 共 6 份, 按上述方法制备成 6 份供试品溶液, 测定这 8 种成分的含量。绿原酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、异绿原酸 A、紫云英苷、异绿原酸 C 质量分数的 RSD 值分别为 3.20%、3.22%、2.77%、2.26%、2.23%、2.99%、3.36%、2.95%。

2.5.5 加样回收率试验 精密称取同一份(5 号样品)已测定这 8 种成分含量的川西合耳菊样品粉末 0.50 g, 共 6 份, 分别加入与样品中 8 种成分含量相当的对照品溶液, 制备成加样供试品溶液; 测定 8 种成分的量, 再计算加样回收率。绿原酸、芦丁、

金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、异绿原酸 A、紫云英苷、异绿原酸 C 的回收率分别为 96.3%、104.8%、104.2%、97.3%、104.9%、104.3%、96.7%、103.5%, RSD 值分别为 1.65%、1.02%、1.92%、1.19%、2.73%、1.85%、2.55%、1.74%。

2.6 样品测定

精密称川西合耳菊样品粉末, 每份药材样品称取 2 份, 分别按“2.2”项方法制备供试品溶液, 按“2.4”项色谱条件测定这 8 种成分的含量; 2 份重复结果的平均绝对偏差(ADM, absolute deviation from the mean)不得大于 5%。再计算 2 份平行样品中这 8 种成分的平均含量。

3 结果与分析

3.1 不同产地川西合耳菊药材中药效成分之间的比较

分别从西藏拉萨和林芝、四川道孚和茂县, 青海西宁收集了 19 份川西合耳菊药材, 测定了样品中这 8 种药效成分的含量(表 3)。结果表明, 在这些样品中, 绿原酸的含量最高(9.74 mg/g), 其次为异绿原酸 A(8.57 mg/g)、芦丁(3.65 mg/g); 而紫云英苷的含量最低(0.34 mg/g)。3 种酚酸类成分的总量(20.56 mg/g)为 5 种黄酮类成分总量(7.40 mg/g)的 2.78 倍。这些成分具有抗炎、抗菌等作用, 与该药的清热解毒功效相符, 可评价其质量。

表 3 不同产地川西合耳菊样品中 8 种药效成分的含量 (n=2)

Table 3 Contents of eight bioactive compounds in samples of *S. solidaginea* from different cultivating areas (n=2)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)								总量
	芦丁	金丝桃苷	异槲皮苷	烟花苷	紫云英苷	绿原酸	异绿原酸 A	异绿原酸 C	
1	2.08	0.79	1.31	0.75	0.50	7.17	4.26	1.62	18.48
2	3.53	2.23	1.58	1.03	0.47	12.06	9.87	2.34	33.12
3	2.80	2.55	2.30	1.48	0.97	17.92	19.46	5.03	52.58
4	2.88	0.88	0.31	0.59	未检出	8.35	7.07	1.79	21.88
5	2.62	2.72	1.89	1.29	1.04	12.99	17.05	3.74	43.34
6	1.98	未检出	0.26	0.67	未检出	6.06	4.01	1.14	14.11
7	4.02	1.26	0.81	0.77	未检出	10.69	6.40	2.18	26.12
8	4.52	1.13	0.91	0.92	未检出	14.26	7.29	2.52	31.56
9	6.00	1.65	0.87	0.61	未检出	13.48	8.96	2.34	33.92
10	5.34	2.45	0.85	0.87	未检出	15.34	11.97	3.20	40.02
11	4.69	1.51	0.57	0.50	未检出	8.19	8.55	2.14	26.16
12	6.57	1.81	0.91	0.90	未检出	8.81	12.20	3.06	34.26
13	1.21	1.30	1.17	0.84	0.63	9.41	9.56	1.81	25.94
14	1.25	1.40	1.50	1.45	1.19	14.41	15.34	4.49	41.03
15	1.27	1.48	1.45	0.67	0.52	8.50	8.46	1.62	23.98
16	1.08	1.14	0.80	0.83	0.45	5.89	3.05	0.43	13.67
17	1.68	1.51	1.05	1.14	0.64	10.28	2.86	0.81	19.96
18	0.62	0.87	0.56	0.30	0.21	3.99	2.25	0.32	9.13
19	4.91	2.43	3.33	1.76	1.10	16.08	12.47	3.76	45.83
平均值	3.65	1.36	1.26	0.79	0.34	9.74	8.57	2.25	27.98

从总体上看, 西藏林芝和拉萨与四川道孚药材中的药效成分含量相近(表 4), 这 8 种成分的总量相差 4.77%; 这 2 个产地样品的含量分别高于四川茂县的样品 66.65% 和 74.60%。

表 4 不同产地川西合耳菊样品中 8 种药效成分的平均含量

Table 4 Average contents of eight bioactive components in samples of *S. solidaginea* from different cultivating areas

产地	样品数	质量分数/(mg·g ⁻¹)								总量
		芦丁	金丝桃苷	异槲皮苷	烟花苷	紫云英苷	绿原酸	异绿原酸 A	异绿原酸 C	
西藏林芝和拉萨	6	2.65	1.53	1.28	0.97	0.50	10.76	10.29	2.61	30.58
四川道孚	6	5.19	1.64	0.82	0.76	未检出	11.80	9.23	2.57	32.04
四川茂县	6	2.91	0.75	1.31	0.49	0.39	5.62	5.56	1.32	18.35

将这 8 种药效成分含量的标准化值代入以下主成分公式:

$$Y_1 = 0.387z_1 + 0.124z_2 + 0.368z_3 + 0.375z_4 + 0.390z_5 + 0.392z_6 + 0.308z_7 + 0.398z_8$$

$$Y_2 = 0.199z_1 + 0.706z_2 + 0.159z_3 - 0.234z_4 - 0.207z_5 + 0.119z_6 - 0.544z_7 + 0.167z_8$$

不同川西合耳菊样品综合得分 (F) 公式:

$$F = (5.224 Y_1 + 1.638 Y_2) / 8$$

按上述公式计算各样品主成分, 得到综合得分(图 2)。在西藏林芝和拉萨 6 份样品中, 3 份为正数, 3 份为负数; 在四川道孚 6 份样品中, 4 份为正数, 2 份为负数; 在四川茂县 6 份样品中, 1 份为正数, 5 份为负数。西藏林芝和拉萨、四川道孚、四川茂县川西合耳菊样品的综合得分分别为 0.622、0.708、-3.135。表明以这 8 种药效成分含量为指标, 四川道孚的样品质量更好, 其次为西藏林芝和拉萨、四川茂县。

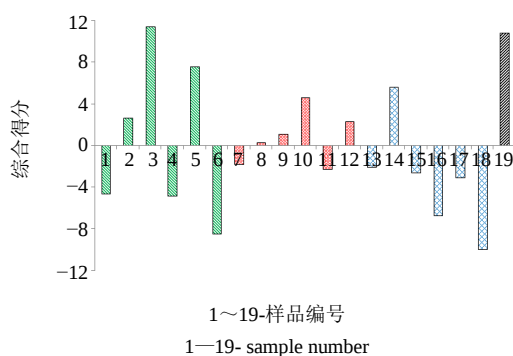


图 2 不同产地川西合耳菊中药效成分主成分分析的综合得分图

Fig. 2 Comprehensive score chart of principal component analysis of bioactive compounds in *S. solidaginea* from different cultivating areas

用统计软件 SPSS 22 对其含量进行主成分分析。相关矩阵的特征值计算结果表明, 前 2 个主成分的累计方差贡献率为 85.782%。故取前 2 个主成分进行主成分分析。

3.2 川西合耳菊不同部位药效成分之间的比较

在对川西合耳菊的地上部分进行干燥、包装等过程中, 发现叶、花容易脱落, 造成不同样品中茎、叶、花的比例不同, 可能影响药材质量不同。为此, 本研究将 12 份(编号 2~5、8~12、16~18)从野外采集的花、叶较多的药材全株分为茎、叶、花 3 个部位, 分别测定这 8 种药效成分的含量(表 5)。结果表明, 这些药效成分在叶中的含量最高, 这 8 种药效成分的总量达到 3 个部位总和的 59.15%~65.61%; 其次为花, 占 30.52%~34.31%; 在茎中的含量最低, 仅占 3.9%~5.7%。在这 12 份样品的茎中, 均未检测到金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷; 多数样品中未发现异绿原酸 C; 检测出绿原酸、芦丁和异绿原酸 A 含量较低, 仅为叶和花中的 9.99% 和 23.08%。

这 8 种药效成分在茎、叶、花中的分布规律不同。总体趋势是金丝桃苷在花中的含量高, 其次为叶, 在茎中的含量最低。而其他 7 种成分的含量在叶中最高, 其次为花, 茎中最低。由此可见, 川西合耳菊应在开花期采收; 在采收、干燥、包装、运输等过程中, 应尽量避免叶和花脱落。同时, 在制定川西合耳菊的质量标准时, 可参照《中国药典》中薄荷、穿心莲、广藿香等药材, 规定药材含叶量(20%~30%)^[18], 以保证药材的质量。

3.3 不同产地川西合耳菊相同部位药效成分之间的比较

由于不同产地川西合耳菊药材的含叶量不同, 为了比较不同产地样品中这 8 种药效成分之间的含量差异, 对不同产地植株的相同部位进行了比较(表 6)。因其他产地样品因花较少, 故仅比较了西藏林芝、四川道孚、四川茂县 3 个产地。

表 5 川西合耳菊不同部位 8 种成分的含量 ($n=3$)Table 5 Contents of eight components in various plant parts of *S. solidaginea* ($n=3$)

编号	部位	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)								总量
		芦丁	金丝桃苷	异槲皮苷	烟花苷	紫云英苷	绿原酸	异绿原酸 A	异绿原酸 C	
2	叶	4.80	4.10	4.92	2.86	2.31	42.55	30.28	10.65	102.54
	花	1.90	9.68	1.09	未检出	未检出	8.61	11.34	1.60	34.22
	茎	0.53	未检出	未检出	未检出	未检出	2.92	0.72	未检出	4.17
3	叶	5.44	3.74	4.87	2.74	2.05	40.06	28.38	9.54	96.82
	花	1.30	12.97	1.30	未检出	未检出	9.06	11.53	1.83	38.00
	茎	0.88	未检出	未检出	未检出	未检出	3.58	0.76	0.19	5.42
4	叶	3.87	1.30	3.00	2.23	2.30	27.52	22.85	6.28	69.36
	花	1.02	12.67	1.62	未检出	未检出	9.56	15.74	3.25	43.86
	茎	0.47	未检出	未检出	未检出	未检出	4.69	1.43	0.22	6.80
5	叶	9.16	0.62	1.93	4.41	1.24	9.06	13.17	2.27	41.86
	花	2.46	9.99	0.72	未检出	未检出	4.99	8.67	1.57	28.4
	茎	0.49	未检出	未检出	未检出	未检出	0.83	0.45	未检出	1.77
8	叶	13.11	0.61	2.45	3.06	未检出	36.47	17.22	8.12	81.05
	花	2.99	9.12	2.04	0.51	未检出	13.93	13.05	2.28	43.93
	茎	0.62	未检出	未检出	未检出	未检出	3.57	0.81	0.13	5.14
9	叶	18.20	0.60	2.41	2.82	未检出	30.46	29.10	9.29	92.89
	花	4.30	14.96	3.00	未检出	未检出	13.19	19.46	2.67	57.58
	茎	1.23	未检出	未检出	未检出	未检出	4.48	0.86	0.25	6.82
10	叶	14.36	未检出	2.42	2.86	未检出	33.54	30.64	9.47	93.29
	花	2.27	10.21	0.87	0.59	未检出	13.61	18.64	3.66	49.86
	茎	1.53	未检出	未检出	未检出	未检出	6.55	0.93	0.23	9.25
11	叶	12.10	未检出	1.31	1.49	未检出	21.77	16.29	5.69	58.65
	花	3.65	7.44	1.05	0.47	未检出	9.74	16.99	3.23	42.56
	茎	0.82	未检出	未检出	未检出	未检出	4.70	2.24	0.45	8.21
12	叶	17.78	未检出	2.17	2.34	未检出	27.51	25.72	7.80	83.31
	花	2.99	8.96	1.25	0.48	未检出	1.27	17.88	2.58	35.40
	茎	1.36	未检出	未检出	未检出	未检出	5.60	1.80	0.26	9.02
16	叶	1.60	1.47	1.28	1.76	0.96	9.80	4.58	0.82	22.27
	花	0.89	2.99	0.78	未检出	未检出	8.20	7.63	0.78	21.28
	茎	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	2.18	0.32	未检出	2.50
17	叶	3.03	2.43	1.94	2.07	1.10	19.36	4.30	1.55	35.77
	花	0.53	2.12	0.34	未检出	未检出	8.31	5.44	0.59	17.33
	茎	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	2.96	0.67	未检出	3.63
18	叶	1.42	1.96	1.20	1.16	0.67	22.12	4.92	1.15	34.59
	花	0.38	3.06	0.30	未检出	未检出	5.31	5.45	0.61	15.11
	茎	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	3.10	1.03	0.22	4.13

表 6 川西合耳菊相同部位不同产地样品中 8 种药效成分总量之间的比较

Table 6 Comparison of total amounts of eight bioactive compounds in same plant parts of *S. solidaginea* collected from different cultivating areas

产地	样品数	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
		叶	花	茎	总和
西藏林芝	4	77.65	36.12	4.58	118.35
四川道孚	5	81.84	45.87	7.69	135.40
四川茂县	3	30.88	17.91	3.42	52.21

结果表明,以这 8 种药效成分的总量为指标,在叶、花和茎中,四川道孚样品中的含量均最高,分别高于西藏林芝样品 5.36% (叶)、26.99% (花) 和 67.9% (茎),高于四川茂县样品 165.03% (叶)、156.11% (花) 和 124.85% (茎)。说明四川道孚产的川西合耳菊的质量较好,其次是西藏林芝样品和四川茂县的样品。这一结果与上述“3.1”项对川西合耳菊全株样品的分析结果一致。

4 讨论

川西合耳菊的地上部分为藏药叶格兴嘎保的基

原植物。由于药材采自于野生植物,质量差异大。虽然文献报道了对该药材中绿原酸、芦丁、金丝桃苷等几种药效成分的含量测定,但是现代研究中发现了一些新的药效成分。本研究通过优化提取方法和色谱条件,建立了 HPLC 同时测定川西合耳菊中芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、烟花苷、紫云英苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 8 种黄酮类和酚酸类成分含量的方法,增加了测定药效成分的种类,分离效果好,方法操作简便,准确度高,可用于该药材的质量检测。

川西合耳菊为阔叶植物,在药材采收、加工等过程中,叶和花很容易脱落。本研究将药材地上部分分为茎、叶、花 3 个部位,测定、比较了这些药效成分的含量,发现这些药效成分主要分布于叶和花中。由于植物不同部位的比例不同,药材的质量不同,建议川西合耳菊于开花期、叶片茂盛时采收。同时,在采收、干燥、包装、运输和使用等过程中,应尽量避免叶和花脱落。在制定川西合耳菊的质量标准时,可规定含量,以保证药材的质量。

川西合耳菊分布于西藏东部和四川西部的高原地区,本研究比较了西藏林芝、四川道孚和四川茂县的样品中这 8 种药效成分的含量。无论从药材地上部分总体比较,还是茎、叶、花不同部位分别比较,四川道孚样品的含量较高,质量更好。

由于超声提取法的操作简单,提取效果好,本研究选择超声提取法,以 70%乙醇为提取溶剂,以这 8 种药效成分的总量为指标,比较了提取时间 30、45、60、70、85、100 min 的提取效果,分别为 17.52、20.31、21.81、22.18、22.23、22.07 mg/g。表明提取 85 min 为最高值,作为样品的提取时间。

由于黄酮类化合物的乙醇溶液在 200~400 nm 范围内有 2 个主要紫外吸收带,峰带 I 位于 300~400 nm,峰带 II 位于 220~280 nm。文献中测定川西合耳菊中绿原酸、金丝桃苷、木犀草苷、芦丁等成分的检测波长为 350 nm。本研究比较了这 8 种药效成分各自的最大吸收波长,并结合各成分在样品中的含量差异,选择 265 nm 为检测波长,获得了较好的准确度。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第七十七卷, 第一分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1999:

225-226.

- [2] 青海省药品检验所. 中国藏药 (第三卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 280.
- [3] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991: 322.
- [4] 杨爱梅, 李笑颜, 李玉兰, 等. 藏药川西千里光中黄酮类成分的分离和结构鉴定 [J]. 中成药, 2011, 33(3): 536-538.
- [5] 李定祥, 俞桂新, 王峥涛. 川西千里光中酚酸类化学成分研究 [J]. 河南中医, 2014, 34(9): 1847-1849.
- [6] 杨爱梅, 李笑颜, 冯艳. 藏药川西千里光中倍半萜类成分的研究 [J]. 中医药学报, 2011, 39(5): 66-68.
- [7] 李笑颜. 藏药川西千里光化学成分的研究 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2010.
- [8] Gao Z Y, Luan Y X, Yang P P, et al. Targeting staphylocoagulase with isoquercitrin protects mice from *Staphylococcus aureus*: Induced pneumonia [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(9): 3909-3919.
- [9] Chen X Y, Cheng C, Zuo X Z, et al. Astragalin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by improving anti-oxidant and anti-inflammatory activities and inhibiting apoptosis pathway in rats [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 120.
- [10] 纪晓花. 荷叶紫云英苷的超声辅助提取及其抑菌活性研究 [J]. 食品工业, 2014, 35(10): 112-114.
- [11] 王忠玲, 唐文哲, 林芳荣. 金丝桃苷对宫颈癌 Hela 细胞凋亡及抗氧化能力的影响 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2019, 22(4): 402-407.
- [12] 李玉山. 芦丁的资源、药理及主要剂型研究进展 [J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(3): 13-16.
- [13] 张希, 许旭东, 田瑜, 等. 绿原酸衍生物的合成及体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 937-942.
- [14] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.
- [15] 胡居吾, 吴磊, 涂招秀, 等. 蔓三七叶中分离绿原酸和异绿原酸及其抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(1): 38-43.
- [16] 蔡霞, 王宇, 谭荣, 等. HPLC 法同时测定藏药川西千里光中的绿原酸、金丝桃苷和木犀草苷的含量 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(1): 156-160.
- [17] 王伟玲, 刘剑桥, 王晓玲. HPLC 法同时测定藏药双花千里光中 6 个化学成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(5): 787-790.
- [18] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 46.

[责任编辑 时圣明]