

# 连翘不同部位连翘苷含量测定及其 抗氧化活性的测定

黄九林<sup>1</sup>, 魏春雁<sup>2</sup>, 李庆华<sup>3</sup>

(1. 安康学院, 陕西 安康 725000; 2. 吉林省农业科学院 农业环境与资源中心, 吉林 长春 130033; 3. 吉林医药学院 医学实验中心, 吉林 吉林 132013)

**摘要:**为综合利用连翘, 现采用超声波辅助法提取连翘苷, HPLC 法测定连翘苷, DPPH 自由基清除法评价抗氧化活性, 对测定连翘不同部位提取液连翘苷含量及其抗氧化活性进行了研究。结果表明: 超声波辅助提取法的最佳提取条件为甲醇含量 75%, 提取 30 min, 物料比为 8:1, 提取次数为 2 次; 连翘叶中连翘苷含量显著高于连翘花和果实; 连翘花、果实、叶提取液抗氧化活性较强。表明连翘苷在连翘叶中含量较高, 连翘不同部位提取液都具有较强的抗氧化活性。

**关键词:**连翘; 超声波辅助法; 连翘苷; 抗氧化

**中图分类号:** S685.24

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2011)11-0084-03

连翘 [*Forsythiae suspensa* (Thunb.) Vahl.] 主要分布于我国中西部地区, 有清热解毒、散结消肿之功效, 主治温热、丹毒、斑疹等症<sup>[1]</sup>。目前, 国内外学者对连翘化学成分及生理活性研究较多, 发现其具有较高抗氧化活性。人们对于连翘的药用价值主要集中在连翘果实上, 对于连翘花和连翘叶的利用还没有完全开发, 其叶和种子也有很高的药用价值和保健价值。现采用超声波辅助法提取连翘苷, 采用 HPLC 法测定连翘苷含量, 对连翘不同部位提取液的抗氧化活性进行初步研究, 旨在为其综合开发利用提供参考。

## 1 材料

供试材料为连翘花、叶和果实, 采自安康长寿医药有限公司。供试仪器为中草药粉碎机 FW80(北京科伟永兴仪器有限公司)、超声波清洗器 SY2200(上海声源超声波仪器设备有限公司)、紫外-可分光光度计 754P(上海光谱仪器有限公司)、高效液相色谱仪 LC-10ATVP(日本岛津)和多功能烘烤箱 101A-1(上海市实验仪器总厂)。供试试剂有甲醇(西安化学试剂厂)、DPPH(sigma)、VC(天津市登峰化学试剂厂)和连翘

苷(同田生物技术公司)。

## 2 方法

### 2.1 连翘苷含量测定

2.1.1 对照溶液的制备 精密称取连翘苷对照品 5.6 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 用 75% 甲醇定容至刻度, 用微孔滤膜(4.5  $\mu$ m)过滤, 作为对照溶液。

2.1.2 提取方法 采用超声波辅助法提取连翘苷, HPLC 法测定连翘苷含量, 进行正交试验(见表 1)。

表 1 正交试验结果

试验号	因素				含量/%
	乙醇含量 /%	提取时间 /min	物料比	提取次数	
1	75	20	6	1	0.24
2	75	30	8	2	0.43
3	75	40	10	3	0.35
4	80	20	8	3	0.24
5	80	30	10	1	0.37
6	80	40	6	2	0.31
7	85	20	10	2	0.29
8	85	30	6	3	0.22
9	85	40	8	1	0.33
T1	1.02	0.77	0.77	0.94	
T2	0.92	1.02	1.00	1.03	
T3	0.84	0.99	1.01	0.81	

2.1.3 连翘提取液的制备 将连翘花、叶、果实 50℃ 烘干, 粉碎, 过 20 目筛, 精密称取 1 g, 置于具塞三角瓶中, 精确加入 8 mL 75% 乙醇, 超声波提取 30 min, 提取 2 次, 过滤, 合并滤液定容至

收稿日期: 2011-09-07

第一作者简介: 黄九林(1981-), 男, 四川省广安市人, 硕士, 讲师, 从事天然产物研究。E-mail: huangjiulin@yahoo.com.cn。

50 mL,用微孔滤膜(4.5  $\mu\text{m}$ )过滤,作为样品溶液。

2.1.4 连翘苷含量测定 取上述样品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,通过高效液相色谱仪测定连翘提取液中连翘苷的含量<sup>[2]</sup>。标准品及连翘提取液色谱图见图 1,图 2。

色谱条件:柱温为 30℃;柱型号为 C-18;检测器为紫外光度检测器;波长为 270 nm;梯度方式为高压梯度;流动相为甲醇:水(1:1)。

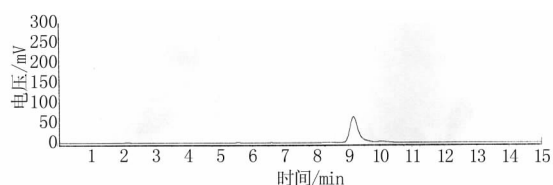


图 1 连翘苷标准品色谱图

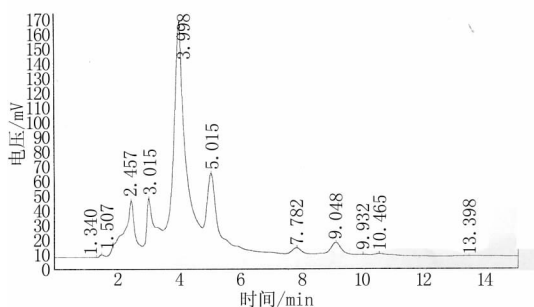


图 2 连翘提取液色谱图

2.1.5 连翘苷标准曲线的绘制 分别精密吸取体积为:3、5、10、15 和 20  $\mu\text{L}$  的连翘苷标准品溶液,按 2.1.4 项所列条件测定连翘苷含量,得连翘苷标准品色谱图。按进样量对连翘苷峰面积做标准曲线,得出连翘苷色谱峰面积( $Y$ )与连翘苷进样量( $X$ )之间的回归方程为: $Y = 4\,000\,000X - 0.437\,6$ ,  $R^2 = 0.999$ 。结果表明,进样量在 1.68~11.2  $\mu\text{g}$  有良好的线性关系。

## 2.2 抗氧化活性测定

2.2.1 DPPH 自由基样品溶液的制备 精密称取 23.7 mg 的 DPPH 对照品,用甲醇定容至 500 mL。得到浓度为 47.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的自由基样品溶液。分别取 2、4、6、8 和 10 mL DPPH 溶液,定容至 10 mL,分别测定各溶液的吸光度,得到标准曲线。得出吸光度( $Y$ )与 DPPH 浓度( $X$ )之间的回归方程为: $Y = 0.022\,6X + 0.005$ ,  $R^2 = 0.999\,5$ 。表明 DPPH 浓度为 9.48~37.92  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时有良好的线性关系。

2.2.2 超声波辅助法提取连翘苷 鲜样用自来水冲净后于 60℃ 恒温鼓风干燥箱中干燥至恒重,干燥的样品用粉碎机粉碎,过 1.2 mm 的筛子。取粉碎样品 5.0 g,加无水甲醇 150 mL 室温下超声波辅助提取 30 min,过滤。滤渣重新加无水甲醇 150 mL 相同条件下再提取 1 次。合并两次提取液,40℃ 减压蒸干。用 50% 的乙醇重新溶解,去除叶绿素,滤液用 50% 乙醇定容至 50 mL 摇匀,作供试样品液备用。每个样品重复 3 次。

2.2.3 DPPH 自由基清除试验 分别精密吸合适浓度连翘提取物溶液,各精密加入 2 mL 浓度为 47.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DPPH 溶液,用甲醇定容至 10 mL。室温下避光静置 1 h 后于 516 nm 处测定吸光值<sup>[3]</sup>。

DPPH 自由基的清除率计算公式:

$$\text{抑制率}/\% = \frac{(DPPH \cdot)_{t=0} - (DPPH \cdot)_t}{(DPPH \cdot)_{t=0}} \times 100$$

式中  $(DPPH \cdot)_{t=0}$  为体系中 DPPH 自由基初始浓度时的吸光度值;  $(DPPH \cdot)_t$  为  $t$  时刻溶液中 DPPH 自由基的浓度的吸光度值<sup>[2]</sup>。以样品对 DPPH 自由基清除率作图,就可以得到清除 50% DPPH 自由基时所需样品的量,即  $EC_{50}$  值。

## 3 结果与分析

### 3.1 超声波辅助提取连翘苷

超声提取法利用超声波产生的强烈振动、高加速度、空化效应和搅拌作用等,可加速有效成分进入溶剂,从而提高提出率,缩短提取时间,并且避免高温对提出成分的影响。由表 1 确定其最佳提取方法为乙醇含量 75%,提取 30 min,物料比为 8:1,提取次数为 2 次。

### 3.2 连翘提取液对 DPPH 自由基清除活性

采用超声波提取法提取抗氧化活性化合物时,如果溶剂中含有水,水在超声波作用下会产生自由基,降低提取物的抗氧化活性,因此选用无水甲醇作为提取溶剂<sup>[4]</sup>。

连翘花、叶和果实提取液连翘苷含量及抗氧化活性测定结果见图 3 及表 2。由表 2 可知:(1)连翘花和果实中连翘苷含量比较低,连翘叶中连翘苷含量比较高,新叶明显高于老叶;(2)连翘花、叶和果实提取液都具有较高的抗氧化活性,但连翘花和果实提取液的抗氧化活性明显高于连翘叶

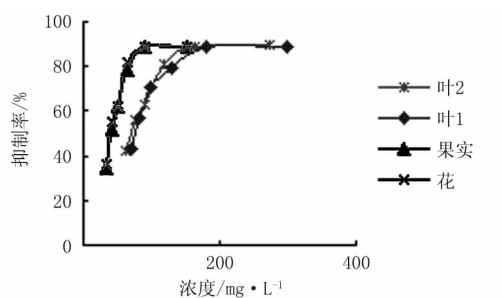


图3 连翘提取液对DPPH抑制率

表2 连翘提取液连翘苷含量及 $EC_{50}$ 

项目	采收日期	连翘苷含量/%	$EC_{50}/mg \cdot mg^{-1}$
花	04-25	0.38	4.26
叶1	04-25	2.25	7.27
叶2	10-01	0.69	7.41
果实	10-01	0.37	4.35

提取液;(3)新叶提取液的抗氧化活性略高于老叶提取液,连翘花提取液的抗氧活性略高于果实提取液;(4)连翘苷含量与连翘提取液抗氧化活性没

有显著线性关系。

#### 4 结论

连翘花、果实和叶提取物都具有较强的抗氧化活性,可以作为天然抗氧化剂的来源。其抗氧化活性需要进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院北京植物所. 高等植物图鉴:第三册[M]. 北京: 科学出版社,1974.
- [2] 曲欢欢,李白雪,燕菲,等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价连翘不同部位抗氧化作用[J]. 中国中药信息杂志, 2008(S1):32-34.
- [3] Larrauri J A, Sanchez M C, Saura C F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels[J]. Agric Food Chem, 1998, 46:2694.
- [4] Paniwnyk L, Beaufoy E, Lorimer J P, et al. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*[J]. Ultrason Sonochem, 2001, 8:299-301.

## Study on Content of Phillyrin and the Antioxidative Capacity of Different Parts of *Forsythia suspensa*

HUANG Jiu-lin<sup>1</sup>, WEI Chun-yan<sup>2</sup>, LI Qing-hua<sup>3</sup>

(1. Ankang College, Ankang, Shananxi, 725000; 2. Agricultural Environment and Resource Center of Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin, 130033; 3. Jilin Medical College, Jilin, Jilin, 132013)

**Abstract:** In order to determine the content of phillyrin and the antioxidant activities of different parts of *Forsythia suspensa*, ultrasonic extraction was applied to extract phillyrin, the antioxidant activities were assayed through scavenging effects to DPPH radical, and the content of forsythin of *Forsythia suspensa* was determined by HPLC. The results showed that the best extraction condition was the methyl alcohol content 75%, with draws 30 minutes, the material ratio was 8:1, the extraction number of times was twice. The content of phillyrin in forsythia leaf was higher than forsythia flower and fruit obviously. Both different parts of *Forsythia suspensa* had antioxidant activity. So the content of phillyrin in forsythia leaf was higher and different parts of *Forsythia suspensa* had antioxidant activity.

**Key words:** *Forsythia suspensa*; ultrasonic extraction; phillyrin; antioxidation

欢 迎 加 盟

协办单位、理事会