

• 生药学 •

不同产地贯叶连翘中贯叶金丝桃素含量分析比较

郑清明, 秦路平, 郑汉臣, 陈磊, 陈万生, 余理红(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的:比较不同产地贯叶连翘中贯叶金丝桃素的含量。方法:采用反相高效液相法(RP-HPLC)测定贯叶金丝桃素含量。结果与结论:不同产地贯叶连翘中贯叶金丝桃素含量有差异,以陕西汉中产含量最高。

关键词 贯叶连翘;贯叶金丝桃素;反相高效液相色谱法

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2002)01-0029-03

Assay and comparison of the contents of hyperforin in *Hypericum Perforatum* from different regions

ZHENG Qing-ming, QIN Lu-ping, ZHENG Han-chen, CHEN Lei, CHEN Wan-sheng, YU Li-hong (School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT OBJECTIVE:To compare the contents of hyperforin in *Hypericum perforatum* from different regions. **METHODS:**A chromatography method of RP-HPLC was used to determinate the contents of hyperforin. **RESULTS and CONCLUSION:**The contents of hyperforin in *Hypericum perforatum* from different regions were different, and that from Hanzhong was the highest.

KEY WORDS *Hypericum Peforatum* L.; hyperforin; RP-HPLC

贯叶连翘 *Hypericum perforatum* L. 又称贯叶金丝桃,为藤黄科金丝桃属的多年生草本,全草入药,具收敛止血,调经通乳,清热解毒,利湿功效。主治咯血,吐血,肠风下血,崩漏,外伤出血,月经不调^[1]。欧洲民间用于治疗创伤。近年研究证明贯叶连翘提取物具有抗轻中度抑郁症作用^[2,3],并在欧美得到了广泛的应用。贯叶金丝桃素(hyperforin)为贯叶连翘提取物中的脂溶性成分,很早被证明具有抗菌活性,然而,越来越多的研究证明贯叶金丝桃素是贯叶连翘抗抑郁作用的主要活性成分之一^[4-6]。贯叶连翘在我国主要分布于西南、西北各省区,资源较为丰富,但对国产种中的贯叶金丝桃素含量分析未见报道。本文采用 RP-HPLC 法,测定了我国陕西、甘肃、贵州和西欧荷兰奈梅亨贯叶连翘中贯叶金丝桃素的含量,为贯叶连翘的进一步开发利用提供一些科学依据。

1 方法

1.1 材料与仪器

本实验所用药材均为本文作者实地采集,其产地见表 1。原植物经郑汉臣教授鉴定为贯叶连翘 *Hypericum perforatum* L.。化学对照品贯叶金丝桃素由比利时 Gent 大学贺卫东博士提供。高效液相色谱仪:Waters 510 泵,UV-VIS 检测仪(Waters 2487),Rheodyne 7725I 进样阀,乙腈(色谱纯)、甲醇(分析

纯)、NaH₂PO₄(分析纯)、H₃PO₄(分析纯)均购自上海化学试剂公司,双蒸水为本校长征医院制剂室新制。

1.2 样品制备方法

将采集的贯叶连翘药材分两组处理:甲组取顶端 25cm,乙组取地上全植株,在 40℃烘箱内烘干后,用粉碎机中粉碎,每份样品称取 5.0g,加入甲醇 30ml 进行超声提取,共提取 3 次,每次 40min,用 0.45μm 微孔滤膜过滤,定容为 100ml,稀释 10 倍后进行 HPLC 测定。

1.3 对照品溶液配制

精密称取贯叶金丝桃素对照品 3.8mg 置 10ml 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,按比例依次稀释为 0.1900, 0.0950, 0.0475, 0.0238, 0.0119mg/ml。低温避光备用。

1.4 HPLC 检测条件

仿照 P. Maisenbacher^[7],色谱柱:Hypersil-ODS 反相柱(大连依利特公司,250mm×id.4.6mm),流动相:乙腈:NaH₂PO₄-H₃PO₄缓冲液(0.1M, pH 2.50) 90:10(V/V,%),流速:1.0ml/min,进样量:20μl,柱温:24℃,柱压:840psi,检测波长:272nm。

2 实验结果

2.1 标准曲线

以测得的峰面积为纵坐标 Y,相应的化学对照

品浓度为横坐标 X 作直线回归拟合: $Y = A + BX$, 结果: $A = 14551.7$, $B = 162683205.6$, 相关系数 $r =$

0.9998, 检测线性范围: 在 0.01~0.20mg/ml 范围内呈良好线性。

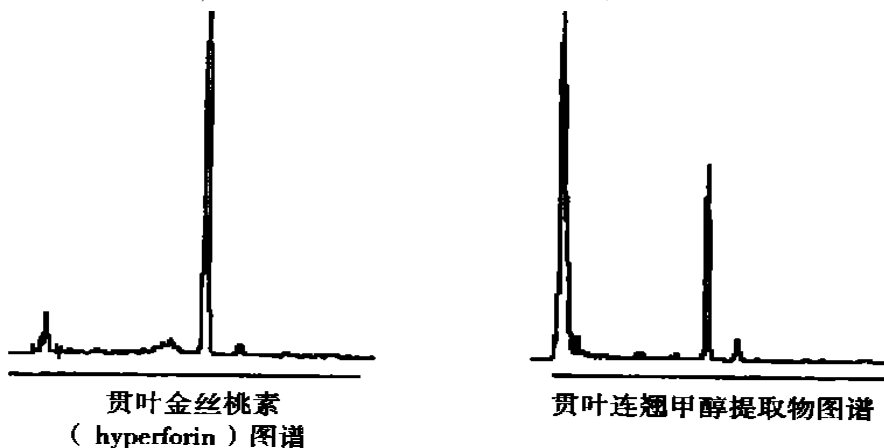


图 1 贯叶金丝桃素(hyperforin)及贯叶连翘药材甲醇提取物 HPLC 图谱

2.2 精密度实验

取同一份样品, 连续进样 5 次, 测得峰面积, 结果 RSD 为 0.86%。

2.3 重现性实验

取同一样品, 按样品制备方法分别制备 5 份, 按以上方法进行测定, RSD 为 2.20%。

2.4 回收率实验

取一份样品, 加入 0.0237mg/ml 对照品溶液

2ml, 其余操作同样品测定, 回收率为 98.25 ± 1.43%。

2.5 稳定性实验

室温下, 将新制备样品液于室内避光放置, 每隔 4h 测定 1 次。结果表明, 在避光状态下, 贯叶金丝桃素峰面积至少在 48h 内保持稳定。

2.6 贯叶金丝桃素含量测定

表 1 不同产地贯叶连翘中贯叶金丝桃素含量测定结果 ($n = 3$)

| 产地 | 采集时间 | 生境 | 海拔(m) | 贯叶金丝桃素含量(w/w, %) | | | |
|---------------------|------------|------|-------|------------------|--------|-------|--------|
| | | | | 甲组 | RSD(%) | 乙组 | RSD(%) |
| 陕西北 | 2000年7月盛花期 | 山谷 | 1600 | 1.134 | 1.52 | 0.815 | 2.25 |
| 陕西汉中 | 2000年7月幼果期 | 地埂 | 400 | 7.286 | 0.70 | 3.603 | 1.66 |
| 陕西留坝 | 2000年7月盛花期 | 山谷荒地 | 800 | 2.245 | 1.63 | 1.324 | 1.74 |
| 甘肃武都 | 2000年7月盛花期 | 山谷荒地 | 800 | 5.094 | 1.18 | 2.466 | 1.50 |
| 贵阳市郊 | 2000年7月花期 | 山坡 | 600 | 2.116 | 1.95 | 1.157 | 0.69 |
| 荷兰奈梅亨 (Nijmegen) | 2000年7月盛花期 | 平原绿地 | 15 | - | - | 5.984 | 0.86 |

注: 甲组: 贯叶连翘顶端 25cm, 乙组: 贯叶连翘地上全植株。

3 讨论

贯叶金丝桃素为光敏性化合物, 易氧化分解, 对热也不稳定, 但其在药材中的含量是一项重要的质量指标。因此在药材的采收、干燥和贮存过程中应尽量避免高温、高热。贯叶金丝桃素化学对照品应放置在液氮中保存, 在测定过程中也应尽量在低温、避光条件下进行。药材中某种次生代谢产物含量的高低与多种因素(如纬度、海拔高度、生境、采收期、光照、水分及土壤肥沃程度等)有关。从本实验的结果看出, 各地样品中的化学成分含量差异较大, 其中陕西汉中产药材中的贯叶金丝桃素含量远高于其他产地样品。各产地甲组贯叶金丝桃素含量几乎为乙组的两倍, 表明贯叶金丝桃素主要分布在花或幼果

中, 在叶和枝中较少, 这与金丝桃素的分布类似^[8]。因此, 作者建议在采收药材时采用顶端约 25cm 左右, 可节约运输费用、贮存空间和降低生产成本。与荷兰奈梅亨(Nijmegen)产贯叶连翘相比, 国产贯叶金丝桃素含量略低。根据测定结果, 作者认为陕西汉中地区可作为贯叶连翘的优质产地。

致谢: 贵州中药研究所陈龙林副研究员、陕西汉中地区药材公司李世全经理、甘肃武都医药公司郝继荣先生在采药过程中给予大力协助, 比利时 Gent 大学贺卫东博士提供化学对照品, 谨致谢意!

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草[M], 第 3 册, 上海科学技术出版社, 1999: 604. (下转第 36 页)

根据抗感染药物 DDDs 值的大小, 逐月列出排 名前 10 位的日均用药金额, 结果见表 5。

表 5 用药频度前 10 位抗感染药物 DDDs 排序统计结果

| 品名 | 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|
| 羟氨苄青霉素胶囊 | 1 | | 1 | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 4 | 1 | 5 | 1 |
| 异烟肼片 | 2 | 9 | | | 1 | 2 | 7 | 4 | 1 | 7 | | |
| 乙胺丁醇片 | 3 | 5 | 7 | | 3 | 1 | | 2 | 10 | 4 | 3 | |
| 青霉素 V 钾胶囊 | 4 | 1 | 4 | 1 | | 8 | 9 | | | 2 | | 8 |
| 青霉素针 | 5 | 8 | 3 | 8 | 2 | 4 | 2 | 3 | 2 | 9 | 1 | 6 |
| 利福平胶囊 | 6 | | | 9 | 5 | 5 | 8 | 10 | 7 | | 9 | 9 |
| 氨苄青霉素胶囊 | 7 | 6 | 8 | 5 | 8 | | 10 | | | | 8 | 2 |
| 多西环素片 | 8 | 2 | 5 | 2 | 6 | 6 | 3 | 7 | 6 | 3 | 4 | 4 |
| 舒他西林针 | 9 | 3 | 6 | 7 | 7 | 10 | 6 | 6 | 9 | 8 | 2 | 3 |
| 美满霉素胶囊 | 10 | 10 | 10 | | 10 | | | 9 | | 10 | | |
| 克林霉素胶囊 | | 4 | 2 | 3 | 9 | 9 | 4 | 5 | 5 | 5 | 7 | 5 |
| 头孢哌酮钠针 | | | | | | 7 | 5 | 8 | 3 | 6 | 6 | 7 |
| 头孢三嗪针 | | | | 10 | | | | | 8 | | 10 | 10 |
| 培福沙星胶囊 | | 7 | | | | | | | | | | |
| 头孢羟氨苄青霉素胶囊 | | | 9 | | | | | | | | | |
| 头孢氨苄胶囊 | | | | 6 | | | | | | | | |

由表 5 可知, 该院每个月 DDDs 列前 10 位的抗感染药物品种大致趋于稳定, 且口服品种占绝大多数, 但具体排序结果存在较大差异。

3 讨论

抗感染药物为临床使用最为广泛的药物, 该院虽然为一所地区级综合性医院, 但其抗感染药物销售金额占所有药品销售额的百分比与其他大型医院相似^[2], 约为 33% 左右。

通过各类抗感染药物用药频度和用药频度前 10 位抗感染药物统计结果可以看出, 目前该院临床使用频度最高的仍然为疗效确实且价格低廉的青霉素类药物, 这与该院为一地市级综合医院, 应诊者多来自农村的特点是相符合的。 β 内酰胺酶抑制剂能有效克服细菌对 β 内酰胺类抗生素的耐药性, 同时显著降低其最低抑菌浓度, 提高抗菌药物疗效, 在该院也得到了一定应用, 用药频度排名第 6, 只是由于其价格较高(日均用药金额排名第一), 不利于其进一步推广应用。

通过对每个月使用频度排前 10 位抗感染药物使用情况进行分析可以看出, 该院在抗感染药物的使用上仍存在部分不合理现象, 主要表现为用药的随意性较大。如青霉素 V 钾胶囊按 DDDs 排序, 最高时排到第 1 位, 最低时排到 10 位之后。又如舒他西林针, 其日均用药金额最大, 日均用药金额达到 100 元左右, 而其 DDDs 序号波动范围为 2~ 10, 现实该品种在使用时存在存在一定不合理现象。由此可见, 如何采取各种措施促使临床医生合理使用抗感染药物, 降低微生物的耐药速度, 逐步缩短我国抗感染药物使用与国际上的差距已逐渐成为临床药理学和治疗学所面临的一个重要课题。

参考文献:

- [1] WHO Collaborating Center for Drug Statistics Methodology. ATC Index with DDDs 2000[M]. 2000. 94.
- [2] 肖轶雯, 彭六保, 聂星湖, 等. 某综合性医院近 4 年抗感染药物使用动态分析[J]. 药物流行病学杂志. 2000, 9(2): 76.

收稿日期: 2001- 08- 06

(上接第 30 页)

- [2] Linda K, Ramirez G, Mulrow CD, *et al.* St. John's wort for depression- an overview and meta- analysis of randomized clinical trials [J]. *BMJ*, 1996, 13: 253.
- [3] Harrer G, Schulz V. Clinical investigation of antidepressant of Hypericum[J]. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 1994, 7 (suppl 1): s6.
- [4] Chatterjee SS, Bhattacharya SK, Wonnemann M, *et al.* Hyperforin as a possible antidepressant component of Hypericum extracts[J]. *Life Sciences*, 1998, 63 (6): 499.
- [5] Muller WE, Singer A, Wonnemann M, *et al.* Hyperforin represents

the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract [J]. *Pharmacopsychiatry*. 1998, 31 (suppl 1): 16.

- [6] Laakmann G, Schule C, Baghai T, *et al.* St. John's wort on wild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy[J]. *Pharmacopsychiatry*, 1998, 31 (suppl 1): 54.
- [7] Maisenbacher P, Kovar KA. Analysis and stability of Hyperici Oleum [J]. *Planta Med*, 1992, (58): 351.
- [8] 周佳, 王春德, 刘莹, 等. 贯叶连翘中金丝桃素等有效成分含量分析[J]. *中草药*, 1999, 30(9): 661.

收稿日期: 2001- 09- 12