

# HPLC法测定瑶药鸚鵡风中绿原酸的含量<sup>△</sup>

滕建北\*, 谢凤凤, 梁雁, 蔡毅<sup>#</sup>(广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0797-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.26

**摘要** 目的:建立测定瑶药鸚鵡风中绿原酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ODS<sub>2</sub> C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.1%磷酸(10:90, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为330 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:绿原酸的进样量在0.035~1.120 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系;精密度试验的RSD<2%,重复性、稳定性试验的RSD<3%;平均加样回收率为102.37%,RSD=2.52%(n=6)。结论:该方法简单快速、重复性好、准确度高,可用于瑶药鸚鵡风中绿原酸含量的测定。

**关键词** 鸚鵡风;绿原酸;高效液相色谱法;含量测定

## Determination of Chlorogenic Acid Content in Yao Drug *Tetrapanax papyriferus* by HPLC

TENG Jian-bei, XIE Feng-feng, LIANG Yan, CAI Yi (College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of chlorogenic acid content in Yao drug *Tetrapanax papyriferus* by HPLC. METHODS: HPLC was conducted with the chromatographic column of ODS<sub>2</sub> C<sub>18</sub>; the mobile phase was acetonitrile-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (10:90, V/V) with a flow rate of 1.0 ml/min; the detection wavelength was 330 nm, the column temperature was 30 ℃ and the volume was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the content of chlorogenic acid and peak surface values in the range of 0.035-1.120 μg. The RSD of precision test were less than 2%, the RSD of repeatability and stability tests were less than 3%; the average recovery was 102.37%, RSD was 2.52% (n=6). CONCLUSIONS: The HPLC method is simple, sensitive and accurate to determine the chlorogenic acid content in Yao drug *T. papyriferus*.

**KEYWORDS** *Tetrapanax papyriferus*; Chlorogenic acid; HPLC; Content determination

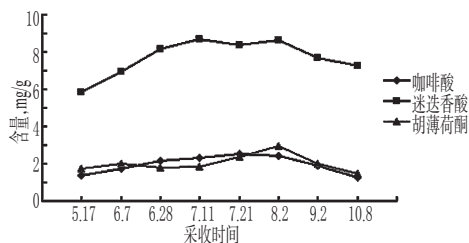


图2 不同采收期新塔花药材中胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的含量变化

Fig 2 The content changes of pulegone, caffeic acid and rosmarinic acid in *Z. bungeana* during different harvest periods

同生长周期的新塔花药材进行了含量测定。结果表明,从4月底返青至10月初种子成熟的整个生长周期,新塔花中3种指标性成分含量总体呈现出先升高后降低的趋势:胡薄荷酮与咖啡酸含量从7月中旬至8月中旬达到峰值,6月下旬至8月初迷迭香酸的含量较高,此阶段新塔花处于盛花期。因此,可初步确定新塔花药材在7月中旬至8月初的有效成分含量最高、质量较好,可在此阶段进行采收。

<sup>△</sup>基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2011GXNSFF018006);瑶族习用药材质量评价与标准研究项目(No.MZY2012040)

\* 副教授,博士。研究方向:中药鉴定及质量控制。E-mail: tengjianbei@163.com

<sup>#</sup>通信作者:教授。研究方向:中药鉴定及质量控制。电话:0771-3137525。E-mail: Caiyi118@163.com

综上所述,由于不同生长季节气候、土壤与水分等因素的影响,新塔花药材中的有效成分在不同生长周期的含量不同。本研究结果可为该药材的采收与生产加工提供科学依据。

### 参考文献

- [1] 刘勇民,沙吾提·伊克木.维吾尔药志:上册[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:44.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅.新疆维吾尔自治区药品标准[S].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1987:17.
- [3] 安冬青,胡金霞,赵明芬,等.天香丹对冠心病病人血管内皮生长因子及相关因子的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(8):662.
- [4] 杨建梅,安冬青,王晓峰,等.天香丹颗粒治疗冠心病心绞痛33例[J].上海中医药大学学报,2006,20(2):29.
- [5] 杨伟俊,哈木拉提,孙玉华,等.芳香新塔花对大鼠急性心肌缺血和乳鼠心肌细胞的保护作用[J].现代药物与临床,2010,25(3):194.
- [6] 施洋,毕青,徐墩海,等.维药唇香草挥发油稳定性的研究[J].中国民族民间医药,2009,18(6):1.
- [7] 张海英,李伟,薛洁,等.维药新塔花中胡薄荷酮的鉴别及定量测定[J].中成药,2011,33(9):1628.
- [8] 温献业,刘光明,林善远.HPLC法测定紫苏梗药材中迷迭香酸的含量[J].中国药房,2014,25(27):2565.

(收稿日期:2014-10-23 修回日期:2014-12-15)

(编辑:孙冰)

鸱鹰风为瑶药经典老班药中七十二风之一,又称五加风,来源为五加科植物通脱木 *Tetrapanax papyrifer* 的根或茎枝,其味甘、淡,性寒,具有清热利尿、下乳的功效,临床主治小儿高热惊风、肺热咳嗽、尿路感染、水肿、闭经、哺乳期缺乳、食积饱胀等<sup>[1]</sup>。目前,关于鸱鹰风的相关性研究较少,仅有关于该植物含肌醇、多聚戊糖(约14.30%)、多聚甲基戊糖(约3%)、阿拉伯糖、果糖、果胶、半乳糖及其多糖类的药效学研究等报道<sup>[2-5]</sup>。本研究选择绿原酸为其指标成分,并采用高效液相色谱(HPLC)法对鸱鹰风中的绿原酸含量进行测定,以为完善鸱鹰风的质量控制标准提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260型HPLC仪,配有G-1322A型在线真空脱气机、G-1313A型高压四元泵、二极管阵列检测器及色谱工作站(美国安捷伦公司);BP211D型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

### 1.2 试剂

绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110753-200413);乙腈为色谱纯(天津四友生物医学技术有限公司,批号:20100608);磷酸、甲醇为分析纯(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为:20100624、20120222);水为超纯水。

### 1.3 药材

鸱鹰风药材经广西中医药大学蔡毅教授鉴定为五加科植物通脱木 *T. papyrifer* 的根或茎枝。药材来源见表1。

表1 鸱鹰风药材来源

Tab 1 Regions of *T. papyriferus* materials

编号	采集时间	产地/采集地点	采收季节	样品状态
YYF-1	2013.02.25	广西恭城县栗木镇	冬季	药材
YYF-2	2013.01.07	广西荔浦县药市	冬季	饮片
YYF-3	2013.02.05	广西恭城县栗木镇	冬季	药材
YYF-4	2013.03.23	广西百色市田林县	春季	药材
YYF-5	2013.05.23	广西荔浦县	春季	饮片
YYF-6	2012.06.27	广西恭城县	夏季	药材
YYF-7	2013.06.15	广西恭城县嘉会西南村	夏季	药材
YYF-8	2013.06.15	湖南道县	夏季	药材

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:ODS2 C<sub>18</sub>(250 mm×4.60 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸(10:90, V/V);进样量:10 μl;柱温:30 ℃;流速:1.0 ml/min;检测波长:330 nm。在上述色谱条件下,理论板数以绿原酸峰计不低于3 000。色谱见图1。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取绿原酸对照品适量,加甲醇制成每1 ml含0.14 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取鸱鹰风药材(YYF-6)约1 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入60%甲醇30 ml,称定质量,超声

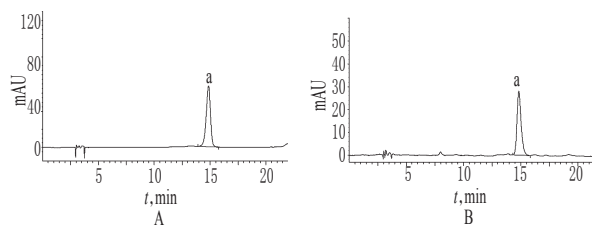


图1 高效液相色谱图

A.绿原酸对照品;B.供试品;a.绿原酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A.chlorogenic acid reference;B.test solution;a.chlorogenic acid

(功率:200 W,频率:40 kHz)处理40 min,放冷,再次精密称定,用60%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,以9 cm为半径、13 000 r/min离心10 min,即得。

### 2.3 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下绿原酸对照品溶液(0.140 0 mg/ml)0.25、0.5、1、2、4、8 ml置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成系列对照品溶液。分别精密吸取系列对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以绿原酸的峰面积(y)为纵坐标、进样量(x, μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程  $y=2\ 780.7x-13.929$  ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,绿原酸的进样量在0.035~1.120 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.4 精密度试验

精密称取绿原酸对照品溶液(0.056 0 mg/ml)适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,  $RSD=0.30\%$  ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.5 稳定性试验

取鸱鹰风药材(YYF-6)适量,按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液,于制备后0、2、4、8、12、24 h时分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,  $RSD=0.63\%$  ( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

### 2.6 重复性试验

取鸱鹰风药材(YYF-6)适量,按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液,共6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,  $RSD=2.71\%$  ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

### 2.7 加样回收率试验

精密称取已知绿原酸含量(0.820 0 mg/g)的鸱鹰风药材(YYF-6)干燥粗粉0.5 g,共6份,分别精密加入绿原酸对照品溶液(0.430 0 mg/ml)1 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表2。

### 2.8 样品含量测定

分别称取不同批次的鸱鹰风干燥粗粉约1 g,各3份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量,结果见表3。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of sample recovery test(n=6)

序号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1	0.409 9	0.430 0	0.855 4	103.60	102.37	2.52
2	0.410 1	0.430 0	0.861 3	104.92		
3	0.410 1	0.430 0	0.856 8	103.90		
4	0.410 2	0.430 0	0.830 8	97.81		
5	0.410 1	0.430 0	0.844 4	101.01		
6	0.410 1	0.430 0	0.857 2	102.95		

表3 不同批次鸚鵡风样品中绿原酸的含量(n=3,mg/g)

Tab 3 Content of chlorogenic acid in *T. papyrifera* of different batches(n=3,mg/g)

编号	含量	平均含量	RSD,%	采收季节	季节平均含量
YYF-1	0.168 9	0.168 4	1.41	冬季	1.273 5
	0.170 4				
	0.165 8				
YYF-2	0.828 7	0.851 4	2.87	冬季	
	0.877 3				
	0.848 3				
YYF-3	2.850 9	2.800 8	2.31	冬季	
	2.72 8				
	2.823 5				
YYF-4	0.143 4	0.141 1	1.55	春季	0.598 9
	0.139 1				
	0.140 7				
YYF-5	1.073 4	1.056 7	1.54	春季	
	1.056 0				
	1.040 8				
YYF-6	0.838 0	0.820 0	1.98	夏季	0.426 9
	0.815 5				
	0.806 5				
YYF-7	0.347 7	0.349 2	1.25	夏季	
	0.345 7				
	0.354 1				
YYF-8	0.112 4	0.111 4	0.84	夏季	
	0.111 0				
	0.110 7				

### 3 讨论

#### 3.1 提取条件的考察

在提取方法考察中,笔者比较了不同提取方法(冷浸、回流、超声)对绿原酸含量的影响,结果绿原酸的含量分别为0.505 5、0.930 4、0.989 7 mg/g,表明超声提取法的绿原酸含量

最高,故最终选择了超声提取的方法。笔者又通过 $L_9(3^3)$ 正交试验,考察了甲醇体积分数(A,60%、70%、80%)、甲醇用量(B,20、25、30 ml)、提取时间(C,20、30、40 min)3个水平。经分析,各因素对绿原酸的提取影响依次为 $B>A>C$ ,A因素中以 $k_1(60\%)$ 最大,B因素中以 $k_3(30\text{ ml})$ 最大,C因素中以 $k_3(40\text{ min})$ 最大。故选择最佳工艺为 $A_1B_3C_3$ ,即:采用60%甲醇30 ml,超声提取40 min。

#### 3.2 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器对检测波长进行了考察,结果表明绿原酸在220 nm和330 nm波长处有最大吸收,但330 nm波长处的绿原酸分离度更好,且此波长下绿原酸峰面积也较大,因此选择该波长作为检测波长。

绿原酸具有抗菌、抗病毒、免疫调节等作用<sup>[6]</sup>,与鸚鵡风抗炎、解热、利尿的功用主治有一定的关联性,故本研究选择绿原酸为指标成分。本研究结果表明,8批鸚鵡风药材中绿原酸含量在0.111 4~2.800 8 mg/g之间,相差较大,说明产地因素的影响明显;此外,冬、春、夏季平均含量分别为1.273 5、0.598 9、0.426 9 mg/g,提示冬季采收的药材绿原酸含量较高。

综上所述,该方法简单快速、重复性好、准确度高,可用于瑶药鸚鵡风中绿原酸含量的测定。

#### 参考文献

- [1] 覃迅云,罗金裕,高志刚.中国瑶药学[M].北京:民族出版社,2002:157-158.
- [2] 康廷国.中药鉴定学[M].北京:中国中医药出版社,2012:228.
- [3] 沈映君,曾南,刘俊,等.通草及小通草多糖药理活性的初步研究[J].中国中药杂志,1998,23(12):741.
- [4] 曾南,沈映君,贾敏如,等.通草及小通草多糖抗氧化作用的实验研究[J].中国中药杂志,1999,24(1):46.
- [5] 沈映君,曾南,贾敏如,等.几种通草及小通草的抗炎、解热、利尿作用的实验研究[J].中国中药杂志,1998,23(11):47.
- [6] 吴卫华,康桢,欧阳冬生,等.绿原酸的药理学研究进展[J].天然产物研究与开发,2006,18(4):691.

(收稿日期:2014-08-11 修回日期:2014-10-03)

(编辑:孙冰)

## 国家卫生计生委副主任马晓伟会见丹麦卫生部常务秘书

本刊讯 2015年1月27日,国家卫生计生委副主任马晓伟在京会见了丹麦卫生部常务秘书佩尔·奥凯尔斯(Per Okkels),双方就加强中丹卫生合作交换了意见。

马晓伟表示,在当前两国关系良好的大背景下,中丹近年来在医疗卫生领域的合作不断发展,成果显著。中方有关卫生行政管理部门和医疗卫生机构同丹方在卫生政策、医疗服务、卫生体制改革和老年保健等领域开展了务实合作。2015年是中丹建交65周年,希望双方携手进一步推动务实合作。奥凯尔

斯表示,丹方重视两国卫生合作,愿同中方共同努力,推动双方机构之间的合作与交流。双方还就医疗卫生体制改革、慢病管理、医院管理等议题进行了探讨。

会前,马晓伟和奥凯尔斯共同出席了由国家卫生计生委和丹麦卫生部、丹麦驻华使馆主办的中国丹麦医院领导力论坛开幕式并致辞。委体改司、医政医管局、财务司、国际司和卫生发展研究中心的有关负责同志出席了上述活动。