

# HPLC 法同时测定淡竹叶中绿原酸和牡荆素的含量

时海燕<sup>1\*</sup>, 徐男<sup>2</sup>, 王玉团<sup>3</sup>, 苏乐群<sup>1</sup>, 李宏建<sup>1</sup>(1.山东省千佛山医院, 济南 250014; 2.山东中医药研究院/国家中医药管理局中药分析重点学科, 济南 250014; 3.山东省食品药品检验所, 济南 250101)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)06-0833-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.06.36

**摘要** 目的:建立同时测定淡竹叶中绿原酸和牡荆素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Atlantis C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 280 nm,柱温为 35 ℃,进样量为 10 μl。结果:绿原酸和牡荆素检测进样量线性范围分别为 0.041 0~1.228 8( $r=0.999\ 8$ )、0.264 0~7.920 0 μg( $r=0.999\ 9$ );精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<2%;加样回收率分别为 97.6%~102.3%(RSD=1.85%, $n=9$ )、97.6%~101.3%(RSD=1.19%, $n=9$ )。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于淡竹叶中绿原酸和牡荆素含量的同时测定。

**关键词** 淡竹叶;绿原酸;牡荆素;含量测定

## Contents Determination of Chlorogenic Acid and Vitexin in *Lophatherum gracile* by HPLC

SHI Haiyan<sup>1</sup>, XU Nan<sup>2</sup>, WANG Yutuan<sup>3</sup>, SU Lequn<sup>1</sup>, LI Hongjian<sup>1</sup>(1.Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Jinan 250014, China; 2.Shandong Academy of Chinese Medicine/Key Disciplines on Analysis of Traditional Chinese Medicine, State Administration of TCM of the PRC, Jinan 250014, China; 3.Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and vitexin in *Lophatherum gracile*. METHODS: HPLC was performed on the column was Waters Atlantis C<sub>18</sub> with mobile phases of acetonitrile - water (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 280 nm, column temperature was 35 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.041 0-1.228 8 μg for chlorogenic acid ( $r=0.999\ 8$ ) and 0.264 0-7.920 0 μg for vitexin ( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 97.6%-102.3% (RSD=1.85%,  $n=9$ ) and 97.1%-101.3% (RSD=1.19%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the simultaneous determination of chlorogenic acid and vitexin in *L. gracile*.

**KEYWORDS** *Lophatherum gracile*; Chlorogenic acid; Vitexin; Content determination

中药淡竹叶为禾本科植物淡竹叶 *Lophatherum gracile* Brongn 的干燥茎叶,具有清热除烦、利尿之功效,临床多用于治疗热病烦渴、口舌生疮、小便赤色淋痛等证的治疗,1977 年以来的历版《中国药典》对其均有收载<sup>[1]</sup>。淡竹叶中含有大量的黄酮、多糖、内酯、叶绿素、氨基酸、维生素、微量元素等成分<sup>[2-6]</sup>。但至今无明确的含量测定方法对淡竹叶进行质量控制。据此,笔者运用高效液相色谱(HPLC)法对不同产地不同批次的淡竹叶中绿原酸和牡荆素进行定量分析,以期为淡竹叶的质量控制方法提供借鉴。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪,包括二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司);AE240 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

### 1.2 试剂

绿原酸对照品(批号:110753-200413,纯度>98%)、牡荆苷对照品(批号:111687-200602,纯度>98%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 药材

淡竹叶(见表 1)经山东中医药大学药学院中药鉴定教研室周凤琴教授鉴定为真品。

\* 主管药师,博士。研究方向:中药新药开发与药效物质。  
E-mail: shihaiyan123@163.com

表 1 淡竹叶来源

Tab 1 Sources of *L. gracile*

编号	批号	城市	备注
1	2013040101	亳州市	购买
2	2013071204	亳州市	购买
3	2014010101	亳州市	购买
4	2013051104	安国市	购买
5	2013101404	安国市	购买
6	2013120201	安国市	购买
7	2013112002	北京市	购买
8	2014010102	北京市	购买
9	2014021004	北京市	购买
7	2013060102	赤峰市	购买
8	2013091507	赤峰市	购买
9	2013121303	赤峰市	购买
10	2013041103	郑州市	购买
11	2013100401	郑州市	购买
12	2013123004	郑州市	购买

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters Atlantis C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~20 min, 5%→25% A; 21~70 min, 25%→35% A);流速:1.0 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。

### 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 10.24 mg,置于 50 ml 棕色量瓶中,加 50% 甲醇溶解并定容,得绿原酸对照品贮备液。精密量取绿原酸对照品贮备液 5 ml,置于 25 ml 棕色量瓶中,加 50% 甲醇定容,即得质量浓度为 0.040 96 mg/ml 的绿原酸对照品溶液。精密称取牡荆素对照品 13.20 mg,置于 50 ml 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并定容,即得质量浓度为 0.264 0 mg/ml 的牡荆素对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品粉末(过 4 号筛)0.5 g,精密称定,精密加 50% 甲醇 50 ml,密塞,称定质量,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)处理 30 min,放冷,再次称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 系统适用性试验和专属性试验

分别取“2.2.1”“2.2.2”项下对照品溶液、供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,详见图 1。由图 1 可知,理论板数以绿原酸、牡荆苷峰计均不少于 5 000,分离度均 > 1.5,各成分基线分离良好,且阴性对照无干扰。

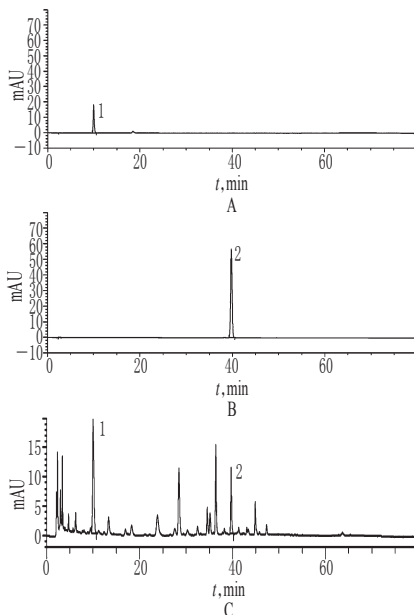


图 1 高效液相色谱图

A.绿原酸对照品;B.牡荆苷对照品;C.供试品;1.绿原酸;2.牡荆素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance of chlorogenic acid; B.reference substance of vitexin; C.test sample; 1.chlorogenic acid; 2.vitexin

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 1、5、10、15、20、25、30  $\mu$ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度( $x, \mu$ g/ml)为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得绿原酸、牡荆苷回归方程分别为 $y=38.423x-0.85(r=0.999 8)$ 、 $y=8.293 8x+1.45(r=0.999 9)$ 。结果表明,绿原酸、牡荆素峰检测进样量线性范围分别为 0.041 0~1.228 8、0.264 0~7.920 0  $\mu$ g。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,绿原酸、牡荆素峰面积的 RSD 分别为 0.83%、0.90% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:1)适量,分别于放置 0、2、4、8、12、24 h 时进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、牡荆

素峰面积的 RSD 分别为 1.09%、0.81% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

### 2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(编号:1)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共 6 份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,绿原酸、牡荆素峰面积的 RSD 分别为 0.69%、0.84% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(编号:1)适量,共 6 份,分别加入高、中、低质量的绿原酸、牡荆素对照品,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,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of recovery test( $n=9$ )

待测成分	取样量, g	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, %
绿原酸	0.251 1	0.676 3	0.512 0	1.182 5	98.9	99.5	1.85
	0.260 1	0.649 7	0.512 0	1.152 0	98.1		
	0.249 9	0.641 4	0.512 0	1.240 9	97.6		
	0.246 7	0.668 7	0.614 4	1.270 0	97.9		
	0.257 2	0.660 1	0.614 4	1.280 3	100.9		
	0.253 9	0.653 1	0.614 4	1.472 6	100.0		
	0.251 2	0.661 4	0.819 2	1.499 5	102.3		
	0.254 4	0.644 8	0.819 2	1.480 1	102.0		
	0.248 0	0.351 5	0.819 2	0.612 3	98.8		
牡荆素	0.251 1	0.364 1	0.264 0	0.625 8	99.1	99.9	1.19
	0.260 1	0.349 9	0.264 0	0.609 4	98.3		
	0.249 9	0.345 4	0.264 0	0.742 0	100.2		
	0.246 7	0.360 1	0.396 0	0.761 2	101.3		
	0.257 2	0.355 5	0.396 0	0.752 9	100.4		
	0.253 9	0.676 3	0.396 0	0.889 7	98.9		
	0.251 2	0.649 7	0.528 0	0.879 5	98.1		
	0.254 4	0.641 4	0.528 0	0.875 7	97.6		
	0.248 0	0.668 7	0.528 0	1.182 5	97.9		

### 2.9 样品含量测定

取 12 批样品各适量,分别按“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,计算样品含量,结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果( $n=3, \text{mg/g}$ )

Tab 3 Results of contents determination of samples ( $n=3, \text{mg/g}$ )

编号	绿原酸	牡荆素
1	5.50	3.25
2	4.81	2.92
3	2.77	2.14
4	1.40	1.11
5	1.83	1.39
6	2.73	1.87
7	2.88	1.51
8	2.60	1.40
9	3.08	2.63
10	4.17	3.22
11	2.87	1.90
12	2.12	1.63

## 3 讨论

本研究运用二极管阵列检测器对绿原酸和牡荆素的对照品溶液进行紫外全波长扫描,发现 280 nm 波长处两种成分均具有较好的吸收,干扰少,图谱特征性强,结合文献[7-10],最终确定测定波长为 280 nm。本试验对流动相进行了选择,结

# 朱砂药材的微性状和显微鉴别

刘治民<sup>1\*</sup>,邢潇<sup>1</sup>,孙冶<sup>1</sup>,翟宏宇<sup>2</sup>,王云红<sup>3</sup>(1.长春市食品药品检验所,长春 130012;2.吉林省药品检验所,长春 130012;3.重庆市中药研究院重庆市中药资源学重点实验室,重庆 400065)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)06-0835-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.06.37

**摘要** 目的:为朱砂临床的应用提供鉴定参考依据。方法:采用中药的微性状鉴别法、显微鉴别法。结果:获得朱砂药材的微性状特征:呈不规则的颗粒状或块片状,大小不一,鲜红色,不透明或半透明,部分有光泽;部分样品呈不规则块状,个大,表面红色,颜色发暗或现灰黑;显微特征:粒度大小不一的不规则颗粒,部分呈块片状,鲜红色,部分有光泽,偶见有黄色颗粒附着。结论:朱砂药材的微性状鉴别和显微鉴别方法简便、快捷,可用于朱砂药材的快速检定。

**关键词** 朱砂;微性状鉴别;显微鉴别。

## Micro-macroscopical and Microscopic Identification of Cinnabaris

LIU Zhimin<sup>1</sup>, XING Xiao<sup>1</sup>, SUN Ye<sup>1</sup>, ZHAI Hongyu<sup>2</sup>, WANG Yunhong<sup>3</sup>(1.Changchun Institute for Food and Drug Control, Changchun 130012, China; 2.Jilin Institute for Drug Control, Changchun 130012, China; 3.Chongqing Key Laboratory of Chongqing Institute of Chinese Medicine Resources Science of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide identification reference for the clinical use of Cinnabaris. METHODS: TCM micro-macroscopical identification method and microscopic identification method were used. RESULTS: The micro-macroscopical characteristics were obtained: irregular granule or sheet block, different forms, wide bright red, opaque translucent with some luster; some samples showed irregular lump with big shape, red scale on surface, dulling or gray-black. The were microscopic characteristics obtained: different forms of irregular granule, some sheet block, wide bright red, with some luster, occasionally with yellow granules. CONCLUSIONS: The method for micro-macroscopical identification and microscopic identification of Cinnabaris is simple and convenient, and it can be used for the rapid verification of Cinnabaris.

**KEYWORDS** Cinnabaris; Micro-macroscopical identification; Microscopic identification

果乙腈-水作流动相时色谱峰峰形较纯水尖锐,基线稳定,分离度好。此外,笔者对色谱条件耐用性进行了考察,结果绿原酸和牡荆素均得到较好的分离效果。另比较了两种提取方法(超声和回流)、不同提取时间、不同体积分数的甲醇及甲醇用量,发现选用50%甲醇50 ml超声提取30 min目标成分得率较高。

本研究所用样品来自5个厂家12批药材,通过含量测定表明,不同厂家的淡竹叶中绿原酸和牡荆素含量存在较大差异,例如亳州药材含量明显高于其他产区;此外,同一地区所产药材各批次间成分含量差异也较大,这些差异可能与产地的气候、海拔、日照等自然因素影响有关。表明淡竹叶的栽培时间、采收时间等有待于进一步规范。

综上,本方法操作简便、稳定、重复性好,可用于淡竹叶中绿原酸和牡荆素含量的同时测定。

### 参考文献

- [1] 宋秋焯,吴启南.中药淡竹叶的研究进展[J].中华中医药学刊,2007,25(3):526.
- [2] 张慧艳.淡竹叶和水竹叶化学成分研究[D].北京:北京中医药大学,2010.
- [3] 袁珂,薛月芹,桂仁意,等.微波消解-原子吸收光谱法测

定不同产地淡竹叶中微量元素的含量[J].光谱学与光谱分析,2010,30(3):804.

- [4] 李志洲.淡竹叶多糖的提取及体外抗氧化性研究[J].中成药,2008,30(3):434.
- [5] 刘会.聚酰胺纯化淡竹叶中总黄酮的工艺研究[J].湖南中医杂志,2012,28(1):95.
- [6] 张靖,王英,张晓琦.淡竹叶化学成分研究[J].中国天然药物,2009,7(6):430.
- [7] 林玲,张琴,赖森亚,等.HPLC法测定菊花中绿原酸含量的不确定度分析[J].辽宁中医药大学学报,2014,16(1):68.
- [8] 马鸿雁,褚夫江,尹永芹.HPLC法同时测定2种返魂草药材中金丝桃苷和绿原酸的含量[J].广东药学院学报,2013,29(3):277.
- [9] 江萌,陈红梅,郑辉.HPLC法同时测定养胃舒颗粒中绿原酸、牡荆素、鼠李糖苷及橙皮苷的含量[J].中国药师,2014,17(3):412.
- [10] 何雅君,苏娟,杨茜,等.HPLC同时测定山楂提取物中绿原酸和牡荆素鼠李糖苷的含量[J].中国中药杂志,2012,37(6):829.

\*药师,硕士。研究方向:中药检验与中药品质评价。E-mail: lzhm01@163.com

(收稿日期:2015-04-18 修回日期:2015-07-05)  
(编辑:张静)