

HPLC-ELSD 法测定杜仲中绿原酸和鹅掌楸苷

吕沅珊, 李隼华, 刘俊红

天津市中西医结合急腹症研究所, 天津 300100

摘要: 目的 建立 HPLC-ELSD 法同时测定杜仲中绿原酸和鹅掌楸苷的方法。方法 奥泰 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.2% 醋酸水, 梯度洗脱; 体积流量: 0.9 mL/min; 柱温: 35 °C; 漂移管 105 °C, 气体流量: 2.5 L/min。结果 绿原酸和鹅掌楸苷分别在 0.021 4~4.280 0 μg 和 0.020 6~4.120 0 μg 呈良好的线性关系; 绿原酸和鹅掌楸苷的平均回收率分别为 98.57%、103.37%, RSD 值分别为 2.23%、2.56%。结论 本法简便、准确, 可用于杜仲中绿原酸和鹅掌楸苷的测定。

关键词: 杜仲; 绿原酸; 鹅掌楸苷; 高效液相色谱 - 蒸发光散射法

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2013)03 - 0344 - 03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2013.03.021

Determination of chlorogenic acid and liriiodendrin in *Eucommiae Cortex* by HPLC-ELSD

Lü Yuan-shan, LI Di-hua, LIU Jun-hong

Tianjin Institute of Acute Abdominal Diseases of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Tianjin 300100, China

Abstract: Objective To establish the method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and liriiodendrin in *Eucommiae Cortex* by HPLC-ELSD. **Methods** Alltima C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.2% acetic acid solution and the gradient elution was carried out. The flow rate was 0.9 mL/min. The temperature of column and drift tube was set at 35 °C and 105 °C, respectively. The flow rate of gas maintained at 2.5 L/min. **Results** The linear ranges of chlorogenic acid and liriiodendrin were 0.021 4 — 4.280 0 and 0.020 6 — 4.120 0 μg, respectively. The average recovery rates of chlorogenic acid and liriiodendrin were 98.57% (RSD=2.23%) and 103.37% (RSD=2.56%). **Conclusion** The method is simple, convenient, and accurate, and could be used for the determination of chlorogenic acid and liriiodendrin in *Eucommiae Cortex*. **Key words:** *Eucommiae Cortex*; chlorogenic acid; liriiodendrin; HPLC-ELSD

杜仲为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮, 具有补肝肾、强筋骨、安胎功效, 用于肝肾不足、腰膝酸痛、筋骨无力、头晕目眩、妊娠漏血、胎动不安。杜仲中主要含有松脂醇二葡萄糖苷、杜仲醇苷等环稀醚萜类, 杜仲胶, 绿原酸、咖啡酸等苯丙素类和鹅掌楸苷等木质素类成分^[1-2]。《中国药典》2010 年版一部“杜仲”项下只进行了松脂醇二葡萄糖苷的测定限量, 规定不得少于 0.10%。为了更加全面的控制其质量, 本研究建立了绿原酸、鹅掌楸苷的高效液相色谱测定法, 为杜仲饮片的全面质量控制提供一定依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

美国 SSI 二元梯度泵, 奥泰蒸发光检测器; Ezchrom 工作站; Mettler AL104 电子分析天平 (梅特勒 - 托利多公司); 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

杜仲饮片购自河北省安国市, 经天津药物研究院中药现代研究部张铁军研究员鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮; 绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号 110753-

收稿日期: 2013-04-12

作者简介: 吕沅珊, 女, 研究员, 致力于中药开发研究 30 年, 主要研究方向为中药新药研究、天然药物活性成分与新药研究, 以及中药质量评价。Tel: (022) 27435360 E-mail: tjnkyy802@163.com

200413; 鹅掌楸苷对照品, 自制, HPLC 法测定质量分数为 98%; 醋酸、甲醇均为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

奥泰 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.2%醋酸水溶液 (B), 梯度洗脱, 0~15 min, 5%A~13%A; 15~30 min, 保持 13%A; 30~45 min, 13%A~20%A; 体积流量: 0.9 mL/min; 柱温: 35 °C; 漂移管 105 °C; 气体流量: 2.5 L/min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸和鹅掌楸苷适量, 置 25 mL 量瓶中, 加 70%甲醇溶解并稀释至刻度, 制成含绿原酸 21.4 μg/mL、鹅掌楸苷 20.6 μg/mL 混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取过 4 号筛的杜仲粉末 1.0 g, 精密称定, 置于 100 mL 三角瓶中, 精密加入 70%甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 补足减失质量, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL 蒸干, 残渣用 70%甲醇溶解, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察

精密吸取含绿原酸 21.4 μg/mL、鹅掌楸苷 20.6 μg/mL 混合对照品溶液 1.0、2.0、5.0、10.0、15.0、20.0 μL, 依次进样, 按上述色谱条件测定。以峰面积对数值对进样质量对数值进行线性回归, 得线性关系方程。绿原酸: $Y = 1.567\ 19\ X + 5.611\ 71$ ($r = 0.999\ 4$); 鹅掌楸苷 $Y = 1.430\ 04\ X + 5.562\ 08$ ($r = 0.999\ 3$)。结果表明绿原酸和鹅掌楸苷分别在 0.021 4~4.280 0 μg 和 0.020 6~4.120 0 μg 与其色谱峰面积对数呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取含绿原酸 21.4 μg/mL、鹅掌楸苷 20.6 μg/mL 混合对照品溶液进样 20 μL, 重复进样 5 次, 记录峰面积, 计算得绿原酸和鹅掌楸苷峰面积的 RSD 值分别为 1.34%、1.85%。

2.6 稳定性试验

取批号 20120813 杜仲样品制备供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、12 h 进样 20 μL 测定, 记录峰面积, 计算得绿原酸和鹅掌楸苷峰面积的 RSD 值分别为 1.09%、1.23%, 结果显示供试品溶液 12 h

内基本稳定。

2.7 重复性试验

平行称取批号 20120813 杜仲样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样 20 μL, 计算得绿原酸和鹅掌楸苷质量分数分别为 0.720、0.488 mg/g, RSD 值分别为 1.55%、1.28%。

2.8 加样回收率试验

取批号 20120813 杜仲样品 6 份, 各 0.5 g, 精密称定, 分别精密加入绿原酸和鹅掌楸苷对照品约 0.36、0.25 mg, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果绿原酸和鹅掌楸苷的平均回收率分别为 98.57%、103.37%, RSD 值分别为 2.23%、2.56%。

2.9 样品测定

取 4 批杜仲粉末 (过 4 号筛) 约 1 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 每次进样 20 μL, 在选定的色谱条件下测定绿原酸和鹅掌楸苷的峰面积, 记录色谱图 (图 1), 以外标法计算杜仲中绿原酸和鹅掌楸苷的质量分数, 结果见表 1。

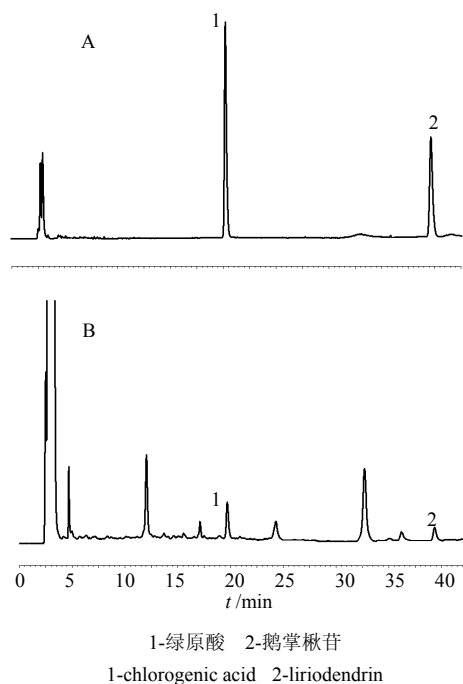


图 1 对照品 (A) 和杜仲供试品 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and *Eucommiae Cortex* sample (B)

3 讨论

3.1 提取条件的考察

取供试品适量, 分别用水、甲醇、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇采用超声波和热回流提取, 结果表明, 超声波提取效率最高, 故选用 70%甲醇超

表 1 杜仲中绿原酸和鹅掌楸苷的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of chlorogenic acid and liriodendrin in *Eucommiae Cortex* ($n=3$)

产地	批 号	绿原酸/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	鹅掌楸苷/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
四川	20120813	0.720	0.488
安徽	20111204	0.826	0.531
湖南	20120406	1.204	0.467
广西	20110909	0.662	0.386

声提取；同时考察了溶媒用量及超声时间，溶媒用量超过 50 倍时含量基本不再增加，超声时间随着时间的延长而略有增加，但综合考虑以 30 min 为宜。

3.2 色谱条件的考察^[3]

以甲醇 - 水 (10 : 90)、乙腈 - 0.1%冰醋酸溶液 (10 : 90) 等作为流动相进行实验，对样品中有效成分的分离效果不佳，经摸索，以乙腈 - 0.2%醋酸作为流动相进行梯度洗脱，效果较好，其他成分峰对需检测成分无干扰。

参考文献

- [1] 程光丽. 杜仲有效成分分析及药理学研究进展 [J]. 中成药, 2006, 28(5): 723-725.
- [2] 刘 慧, 张 盛, 刘仲华. HPLC 法同时测定杜仲皮中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷和松脂醇二葡萄糖苷 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1547-1549.
- [3] 张亚明. HPLC-ELSD 法测定抗感颗粒中绿原酸含量 [J]. 实用临床医药杂志, 2011, 15(5): 89-90.