

## · 药剂与工艺 ·

## 黄褐毛忍冬不同炮制品中绿原酸的 HPLC法含量测定

张艳焱<sup>1</sup>, 张天伦<sup>1</sup>, 梁光义<sup>2\*</sup>, 曹佩雪<sup>2</sup>, 阮靖华<sup>2\*</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵州省、中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002)

**摘要:**目的 比较黄褐毛忍冬花蕾、白花、黄花生晒品及蒸晒品中绿原酸的含量。方法 采用 HPLC法, 反相 Hypersil C<sub>18</sub>柱, 以乙腈-0.4% 磷酸溶液 (13: 87) 为流动相, 检测波长为 327 nm。结果 黄褐毛忍冬花蕾、白花、黄花生晒品绿原酸含量分别为 0.54%, 0.81%, 0.57%; 蒸晒品中绿原酸含量分别为 2.14%, 1.65%, 2.04%。结论 蒸晒法较生晒法炮制的黄褐毛忍冬中绿原酸含量高。

**关键词:** 黄褐毛忍冬; 炮制; 绿原酸; 高效液相色谱

中图分类号: R283.1; R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)08-0696-02

### Determination of chlorogenic acid in different processed crude drugs of *Lonicera fulvotomentosa* by HPLC

ZHANG Yan-yan<sup>1</sup>, ZHANG Tian-lun<sup>1</sup>, LIANG Guang-yi<sup>2</sup>, CAO Pei-xue<sup>2</sup>, RUAN Jing-hua<sup>2</sup>

(1. Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China; 2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

**Abstract** **Object** To compare the contents of chlorogenic acid in the different processed crude drugs of *Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng. **Methods** The contents of chlorogenic acid were determined by HPLC. Chromatographic conditions included Hypersil C<sub>18</sub> column and the mobile phase consisting of a mixture of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (13: 87). Chlorogenic acid was detected at 327 nm wavelength. **Results** The contents of chlorogenic acid were 0.54%, 0.81%, 0.57% in the sun-cured flower bud, white bloom, gold flower in *L. fulvotomentosa* and 2.14%, 1.65%, 2.04% in the steaming sun-cured crude drugs, respectively. **Conclusion** The contents of chlorogenic acid in the steaming sun-cured crude drugs are higher than those in the sun-cured crude drugs.

**Key words** *Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng; processing; chlorogenic acid; HPLC

黄褐毛忍冬是忍冬科植物黄褐毛忍冬 *Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng 的花, 被贵州省地方药材标准收载, 是贵州金银花的主要品种之一<sup>[1]</sup>。有报道将正品金银花基源忍冬科植物忍冬 *L. japonica* Thunb. 与黄褐毛忍冬进行实验比较, 结果黄褐毛忍冬花中的绿原酸等成分含量均高于正品金银花<sup>[2]</sup>。本实验以黄褐毛忍冬花中的绿原酸为指标, 采用 HPLC法分别测定不同成熟期和不同加工方法制得的生晒花蕾、生晒白花、生晒黄花、蒸晒花蕾、蒸晒白花、蒸晒黄花中绿原酸的含量, 为黄褐毛忍冬的采收、加工和应用提供一定的依据。

#### 1 仪器与材料

美国惠普 HP1100型高效液相色谱仪 (包括四元泵, 真空脱气机, 自动进样器, 柱温箱, DAD检测

器), HP1100-WIN D-3D化学工作站, KQ-250型超声波清洗器 (昆山市超声波仪器厂)。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 磷酸为分析纯; 绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号 0753-200111; 不同成熟期黄褐毛忍冬花药材采于贵州省安龙县木咱镇, 经贵阳中医学院张天伦老师鉴定为 *L. fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng, 生晒品为采后直接晒干, 蒸晒品为先蒸 3~5 min, 再晒干。

#### 2 方法与结果

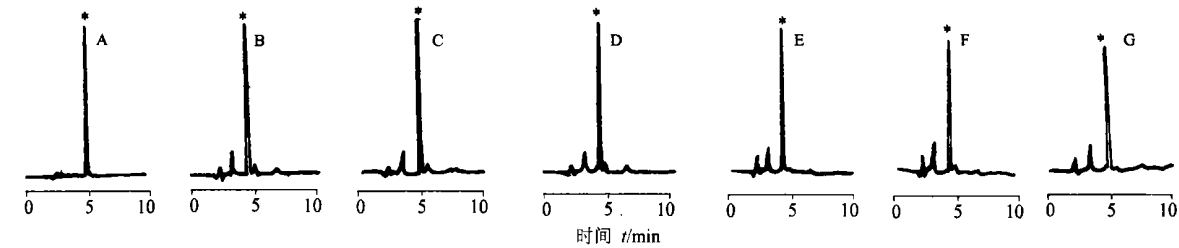
2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm), 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液 (13: 87), 流速: 1 mL/min, 柱温: 25℃, 检测波长: 327 nm。理论塔板数按绿原酸峰计为 8095。对照品及样品色谱图见图 1。

\* 收稿日期: 2002-12-05

基金项目: 贵州省重大攻关项目资助 [黔科社农字 (2000) 1142号]

作者简介: 张艳焱 (1978-), 女, 江苏江都人, 在读硕士, 研究方向为中药新药研发与中药质量标准研究。

\* 通讯作者 Tel (0851) 5652109 Fax: (0851) 5652109 E-mail: guangyi\_liang@hotmail.com



A-绿原酸对照品 B-蒸晒白花 C-蒸晒花蕾 D-蒸晒黄花 E-生晒白花 F-生晒花蕾 G-生晒黄花 \* 绿原酸  
A-chlorogenic acid B-steaming sun-cured white bloom C-steaming sun-cured flower bud D-steaming sun-cured gold flower  
E-sun-cured white bloom F-sun-cured flower bud G-sun-cured gold flower \* -chlorogenic acid

图 1 对照品和样品 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance and samples

2.2 样品溶液的制备:精密称取蒸晒白花粉末(过 40 目筛,60℃真空干燥 4 h)0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声 30 min,放冷,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 5 mL,置 25 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,得蒸晒白花样品溶液(I)。同法,得蒸晒花蕾样品溶液(II),蒸晒黄花样品溶液(III),生晒白花样品溶液(IV),生晒花蕾样品溶液(V)和生晒黄花样品溶液(VI)。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取 70℃减压干燥 24 h 的绿原酸对照品适量,用 50% 甲醇溶解定容得 0.120 0 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。

2.4 标准曲线的制备:精密吸取绿原酸对照品溶液,依次进样 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 μL,以峰面积积分值为纵坐标,对照品进样量为横坐标进行回归,得回归方程为  $Y = 2\,975.308\,81X + 5.777\,39$ ,  $r = 0.999\,9$ ,线性范围为 0.030 0~0.600 0 μg。

2.5 精密度试验:取上述对照品溶液,重复进样 5 次,每次 2 μL,记录色谱峰面积,结果绿原酸峰面积的 RSD 为 0.26%。

2.6 稳定性试验:精密吸取样品溶液 I 5 μL,每 2 h 进样 1 次,共测定 5 次,绿原酸峰面积的 RSD 为 0.48%,表明样品在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:按 2.2 项下方法分别制备 5 份样品溶液 I,按上述色谱条件测定,计算得绿原酸峰面积 RSD 为 2.19%。

2.8 加样回收率试验:取蒸晒白花粉末(含绿原酸约 1.638 mg)5 份,加入适量对照品溶液(绿原酸加入量约 1.490 mg),混匀,按 2.2 项下方法处理,在同样的色谱条件下测定其绿原酸含量,计算回收率。结果平均回收率为 100.68%,RSD 为 2.40%。

2.9 样品测定:分别精密吸取样品溶液 I~VI 各 5 μL,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件各测定 3 次,计算样品溶液中绿原酸含量,结果见表 1。

表 1 黄褐毛忍冬不同炮制品中绿原酸的含量 (n= 3)

Table 1 Contents of chlorogenic acid in different processed drugs of *L. fulvotomentosa* (n= 3)

| 供试品 | 绿原酸含量 % | RSD % |
|-----|---------|-------|
| I   | 1.65    | 2.78  |
| II  | 2.14    | 0.54  |
| III | 2.04    | 2.99  |
| IV  | 0.81    | 2.54  |
| V   | 0.54    | 1.85  |
| VI  | 0.57    | 1.75  |

3 讨论

3.1 实验结果显示黄褐毛忍冬的蒸晒品含绿原酸的量比生晒品高。绿原酸为具有邻位酚羟基的化合物,很易氧化,故用先蒸 3~5 min,再将其晒干的加工方法进行处理,可能抑制药材中酶的活性,阻止绿原酸的继续代谢,此种加工方法较好。

3.2 对绿原酸的含量测定方法有容量法、比色法、紫外分光光度法、薄层扫描法、高效液相色谱法等<sup>[3]</sup>。本实验采用高效液相色谱法对黄褐毛忍冬不同炮制品中绿原酸进行含量测定,所选条件可有效分离其中绿原酸,且方法简便可靠,可作为单味中药黄褐毛忍冬含量测定的依据。

References

[1] Guizhou TCM Research Institute. *Guizhou TCM Resources* (贵州中药资源) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1992.  
[2] Guo Y W, Zhu Z Y, Chen J M, et al. Study on utilization of *Lonicera fulvotomentosa* Hsu. et S. C. Cheng [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1990, 10(1): 2-5.  
[3] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Study of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Vol 3. Beijing: Xueyuan Press, 1998.