

# 忍冬藤中咖啡酰奎宁酸葡萄糖苷的分离及含量测定

林永强, 郭东晓\*, 焦阳, 汪冰, 徐丽华  
(山东省食品药品检验研究院, 济南 250101)

**[摘要]** 目的:忍冬藤中5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的分离鉴定及HPLC含量测定方法的建立。方法:采用色谱分离方法从忍冬藤50%甲醇提取物中分离得到5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸,并通过核磁共振波谱和质谱数据确定其结构。含量测定色谱条件:Dikma Technologies PLATISIL™ ODS C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.4%冰乙酸溶液(B)梯度洗脱(0~20 min,8%~15% A);流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长327 nm;柱温35℃。结果:5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸在0.15~3.07 μg与峰面积呈良好的线性关系,其线性回归方程为 $Y = 1.5213X - 3.7777$  ( $r = 1.0000$ )。供试品溶液在24 h内稳定性良好,平均加样回收率( $n = 6$ )为95.95%,RSD 1.5%。对收集的8批忍冬藤药材进行测定,5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸质量分数1.737~7.390 mg·g<sup>-1</sup>。结论:首次从忍冬藤中分离鉴定了5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸,报道了其完整核磁数据,建立了忍冬藤中该成分的含量测定方法,并设立了合理的含量限度值。建立的含量测定方法准确、可靠,可用于忍冬藤药材的质量控制。

**[关键词]** 忍冬藤; 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸; 结构鉴定; 含量测定

**[中图分类号]** R284.2;R289;R282.6;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0028-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181506

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180516.0959.026.html>

**[网络出版时间]** 2018-05-16 16:00

## Isolation and Content Determination of Caffeoylquinic Acid Glucoside in *Lonicerae Japonicae Caulis*

LIN Yong-qiang, GUO Dong-xiao\*, JIAO Yang, WANG Bing, XU Li-hua  
(Shandong Institute for Food and Drug Control, Ji'nan 250101, China)

**[Abstract]** **Objective:** To isolate and identify 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid from *Lonicerae Japonicae Caulis*, and develop a high performance liquid chromatography (HPLC) method for its content determination. **Method:** 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid was isolated from 50% methanol extract of *Lonicerae Japonicae Caulis* by chromatographic methods, and its structure was identified by nuclear magnetic resonance (NMR) spectrum and mass spectrum (MS) data. Dikma Technologies PLATISIL™ ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with a mobile phase consisting of acetonitrile (A) -0.4% acetic acid solution (B) for gradient elution (0-20 min, 8%-15% A) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 327 nm and the column temperature was 35℃. **Result:** 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid showed a good linear relationship with peak area in the range of 0.15-3.07 μg, with the linear regression equation of  $Y = 1.5213X - 3.7777$  ( $r = 1.0000$ ); the test sample solution was stable within 24 h; the average recovery was 95.95% (RSD 1.5%,  $n = 6$ ). The content of 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid in eight batches of

**[收稿日期]** 20170926(003)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09304307-002);山东省自然科学基金项目(ZR2013HM074);2017年山东省食品药品检验研究院发展类项目(FZL2017-05)

**[第一作者]** 林永强, 硕士, 副主任药师, 从事中药质量控制研究, Tel:0531-81216521, E-mail: franklin810@163.com

**[通信作者]** \*郭东晓, 博士, 副主任药师, 从事中药质量控制研究, Tel:0531-81216523, E-mail: guodx0212@126.com

samples was in the range of 1.737-7.390 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The 5-*O*- (4'-*O*-glucosylcaffeoyl) quinic acid was obtained from *Lonicerae Japonicae Caulis* for the first time. The complete NMR data of 5-*O*- (4'-*O*-glucosylcaffeoyl) quinic acid was presented in this paper for the first time, and the method for its content determination and content limits in *Lonicerae Japonicae Caulis* were established. The established method is accurate and reliable, which could be applied for the quality control of *Lonicerae Japonicae Caulis*.

[**Key words**] *Lonicerae Japonicae Caulis*; 5-*O*- (4'-*O*-glucosylcaffeoyl) quinic acid; structure identification; content determination

忍冬藤具有清热解毒、疏风通络的功效,用于温病发热、热毒血痢、痈肿疮疡、风湿热痹、关节红肿热痛<sup>[1]</sup>。其化学成分主要包括咖啡酰奎宁酸类、三萜类、环烯醚萜类、黄酮类、木脂素类、挥发油等<sup>[2-5]</sup>。咖啡酰奎宁酸是忍冬藤中一类有效成分,具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗氧化、抗纤维化、抑制平滑肌收缩、降血脂等多种活性<sup>[6-10]</sup>,目前已经从忍冬藤中分离鉴定的这类成分包括新绿原酸,绿原酸,3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸,3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸,4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸等<sup>[2,11-14]</sup>。咖啡酰奎宁酸多样的生物学活性引起了国内外学者的广泛关注,对这类成分分离、分析、合成和活性的研究报道较多<sup>[6-10]</sup>,但咖啡酰奎宁酸糖苷的研究却鲜有报道。主要原因是咖啡酰奎宁酸结构中含有多个醇羟基、酚羟基,自身极性较大,形成糖苷后极性更大,这类大极性成分从植物中分离获得单体化合物非常困难。

为进一步开发利用忍冬藤植物资源,本文对忍冬藤进行了深入的化学成分研究,以期为其生物活性研究、药材和相关成方制剂质量控制寻找物质基础。本研究采用组合柱色谱结合 HPLC 分离技术,从忍冬藤中分离得到 1 个咖啡酰奎宁酸糖苷类成分 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸。该成分是绿原酸的单葡萄糖苷,为首次从忍冬藤中分离得到,在忍冬藤中具有较高的含量。由于以往研究中未能分离获得该成分单体化合物,部分文献仅采用液质联用技术对某些植物提取物中的 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸进行了质谱数据分析<sup>[15-16]</sup>。本研究分离得到了该成分单体化合物,对其核磁共振数据进行归属。此外,本文建立了忍冬藤中 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的 HPLC 含量测定方法,为忍冬藤及其中药成方制剂质量标准的制定提供了依据。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);CP225D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);Rotavapor R-210 型旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司);

LCMS-IT-TOF 型液质联用仪(日本岛津公司);Avance 600 型核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司);薄层色谱用硅胶 G,GF<sub>254</sub>(青岛海洋化工有限公司);D101 型大孔吸附树脂(北京绿百草科技发展有限公司);LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,美国 Pharmacia LKB 公司)。甲醇、乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司),水为 Millipore Q-POD<sup>®</sup> 制备的纯化水,其他试剂均为分析纯。

8 批忍冬藤药材中,6 批购自药材市场,1 批为中国食品药品检定研究院对照药材,1 批收集于山东临沂,均保存于山东省食品药品检验研究院中药室,由尤慧莲主任药师鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* 的干燥茎枝。5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸对照品为从忍冬藤中提取分离获得,经质谱、核磁共振波谱确证结构,并采用 HPLC 归一化法测定纯度 >98%。

## 2 方法与结果

**2.1 提取分离** 取忍冬藤药材约 110 g,粉碎成细粉,加适量 50% 甲醇,超声提取 3 次,每次 1 h,滤过,滤液合并,减压回收溶剂,得浸膏约 26 g。浸膏加水使溶解,以 D101 大孔吸附树脂柱色谱分离,以水-甲醇(100:0~50:50)混合溶剂进行洗脱,以薄层色谱跟踪,合并馏分,得到 6 个部位 A~F。取部位 A(约 6.5 g)加水使溶解,以 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离,以水为洗脱溶剂,以薄层色谱跟踪,合并馏分,得到 4 个部位 A1~A4。取部位 A2(约 1.8 g)加适量水使溶解,经 HPLC 纯化,色谱柱为 Dikma Technologies PLATISIL<sup>™</sup> ODS C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5  $\mu$ m),流动相乙腈-0.4% 冰乙酸溶液(4:96),327 nm 检测,收集含有目标成分的洗脱液,减压干燥后得化合物 1(约 120 mg)。

**2.2 结构鉴定** 化合物 1 无色油状物(水)。HR-ESI-MS 图谱给出准分子离子峰  $m/z$  515.139 2 [M-H]<sup>-</sup>(calcd 515.140 6),确定分子式为 C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>,表明该结构含有 9 个不饱和度。通过<sup>13</sup>C-NMR 化学位移和 HSQC 图谱,确定 22 个碳信号中

包括 3 个亚甲基(包括 1 个连氧亚甲基), 13 个次甲基(包括 8 个连氧, 5 个双键次甲基), 以及 6 个季碳(包括 1 个连氧, 3 个双键, 2 个羰基季碳)。<sup>1</sup>H-NMR 图谱表明结构中存在 1 个 1,3,4 位取代的苯环, 一个反式取代的双键, 多个连氧亚甲基和次甲基, 在  $\delta_{\text{H}}$  2.0 ~ 2.5 存在两对亚甲基氢信号。

经与咖啡酸-4-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷<sup>[14]</sup>和绿原酸<sup>[17]</sup>的 NMR 数据对比, 发现该结构可以分为 3 个部分: 奎宁酸、咖啡酸和葡萄糖部分。HMBC 图谱中, 奎宁酸部分 H-5 [ $\delta_{\text{H}}$  5.30 (dt,  $J = 9.0, 4.2$  Hz)] 与咖啡酸部分酯羰基 ( $\delta_{\text{C}}$  168.4) 相关, 表明奎宁酸 C-5 位与咖啡酸羰基形成酯键。葡萄糖部分端基氢 H-1'' [ $\delta_{\text{H}}$  5.14 (d,  $J = 6.6$  Hz)] 与 H-2'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.64 m) 较大的耦合常数 (6.6 Hz) 表明端基取代部分为  $\beta$  构型。葡萄糖端基氢 H-1'' 与咖啡酸 C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  146.7) 相关, 表明葡萄糖部分与咖啡酸 C-4' 位相联。综上, 该

化合物确定为 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸, 结构见图 1。本文首次对该化合物的 NMR 数据进行归属, 该成分为首次从忍冬藤中分离得到, 见表 1。

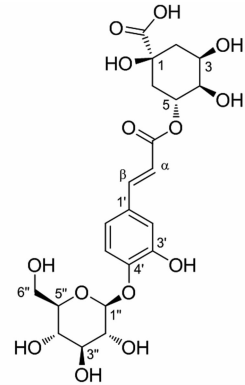


图 1 化合物 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的结构

Fig.1 Structure of compound 5-*O*-(4'-*O*-glucosylcaffeoyl) quinic acid

表 1 5-*O*-[4'-*O*-( $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的 NMR 数据和 HMBC 相关

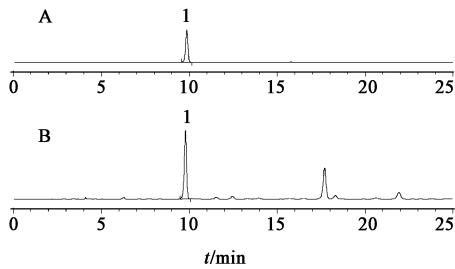
Table 1 NMR data and detailed HMBC correlations of 5-*O*-(4'-*O*-glucosylcaffeoyl) quinic acid

部分	碳位	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	HMBC 相关 (H→C)
奎宁酸	1	75.0	-	-
	2 $\alpha$	36.5	2.08 (dd, $J$ 14.6, 3.6 Hz)	C-1, 3, 4, 6, and COOH
	2 $\beta$	36.5	2.23 (dd, $J$ 14.4, 3.6 Hz)	C-1, 3, 4, 6, and COOH
	3	69.2	4.26 ( $J$ q, 3.6 Hz)	C-1, 2, 4, 5
	4	71.4	3.90 (dd, $J$ 9.0, 3.0 Hz)	C-2, 3, 5, 6
	5	70.8	5.30 (dt, $J$ 9.0, 4.2 Hz)	C-1, 3, 4, 6, and COOR
	6 $\alpha$	36.6	2.15 (dd, $J$ 13.2, 9.6 Hz)	C-1, 2, 4, 5, and COOH
	6 $\beta$	36.6	2.26 (br d, $J$ 13.2 Hz)	C-1, 2, 4, 5, and COOH
COOH	177.5	-	-	
咖啡酸	1'	129.6	-	-
	2'	115.3	7.21 (s)	C-4', 6', $\beta$
	3'	145.5	-	-
	4'	146.7	-	-
	5'	116.1	7.19 (d, $J$ 8.4 Hz)	C-1', 3'
	6'	122.2	7.17 (d, $J$ 8.4 Hz)	C-2', 4'
	$\alpha$	116.1	6.41 (d, $J$ 15.6 Hz)	C-1', $\beta$ , and COOR
	$\beta$	145.5	7.62 (d, $J$ 15.6 Hz)	C-1', 2', 6', $\alpha$ , and COOR
COOR	168.4	-	-	
葡萄糖	1''	100.4	5.14 (d, $J$ 6.6 Hz)	C-4'', 3''
	2''	72.7	3.64 (m)	C-1'', 3'', 4''
	3''	75.4	3.64 (m)	C-1'', 2'', 4'', 5''
	4''	69.2	3.53 (t, $J$ 9.0 Hz)	C-2'', 3'', 5'', 6''
	5''	76.2	3.64 (m)	C-1'', 3'', 4'', 6''
	6''a	60.4	3.94 (d, $J$ 12.0 Hz)	C-4'', 5''
	6''b	60.4	3.78 (dd, $J$ 12.6, 5.4 Hz)	C-4'', 5''

注: 溶剂为 D<sub>2</sub>O; <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据分别在 600, 150 MHz 条件下测定;  $J$  单位为 Hz。

### 2.3 含量测定

**2.3.1 色谱条件** Dikma Technologies PLATISIL™ ODS C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A-0.4% 冰乙酸溶液 (B)), 梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 8% ~ 15% A); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 咖啡酰奎宁酸类成分在 327 nm 波长附近有最大吸收<sup>[18-19]</sup>, 经波长扫描, 选择 327 nm 作为测定波长; 柱温 35 °C; 对照品溶液、供试品溶液进样体积分别为 10, 20 μL。HPLC 色谱见图 2。



A. 对照品; B. 忍冬藤供试品; 1. 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸

图2 忍冬藤药材 HPLC 色谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of Lonicerae Japonicae Caulis

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸对照品 15.36 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液 (0.153 6 g·L<sup>-1</sup>)。精密量取上述对照品贮备液 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 得 30.72 mg·L<sup>-1</sup> 对照品溶液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 取忍冬藤粉末 (过五号筛) 约 0.25 g, 精密称定, 平铺于具塞锥形瓶中, 在烘箱中 150 °C 加热 10 min, 放冷, 精密加水 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用水补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.3.4 线性关系的考察** 精密吸取 2.3.2 项下对照品溶液各 5, 10, 15, 20 μL 及各对照品贮备液各 5, 10, 15, 20 μL, 按 2.3.1 项下色谱条件进行测定。以进样量 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为  $Y = 1.521 3X - 3.777 7$  ( $r = 1.000 0$ )。表明 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸进样量在 0.15 ~ 3.07 μg 与峰面积呈良好的线性。

**2.3.5 精密密度试验** 精密吸取 2.3.2 项下对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 按 2.3.1 项下色谱条件, 连续进样 6 次, 测定峰面积。结果 5-O-[4'-O-

(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸峰面积 RSD 0.1%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.6 检测限和定量限** 分别配制一个较低浓度的对照品溶液, 注入液相色谱仪, 观察其峰高与基线噪音的比值 (即信噪比 S/N), 当 S/N = 3 时, 此时的进样量为检测限 (LOD), 当 S/N = 10 时, 此时的进样量为定量限 (LOQ)。5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的 LOD 为 0.61 ng, LOQ 为 1.84 ng。

**2.3.7 稳定性试验** 取忍冬藤药材 2 号样品, 按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件分别于制备后 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 进样 20 μL, 计算含量, 其 RSD 1.7%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.3.8 重复性试验** 取忍冬藤药材 2 号样品 (水分 7.39%), 按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 平行制备 6 份。分别精密吸取上述供试品溶液各 20 μL, 按 2.3.1 项下色谱条件进样测定。结果该批样品中 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的平均质量分数为 7.114 mg·g<sup>-1</sup> (按干燥品计算), RSD 0.8%, 表明重复性良好。

**2.3.9 加样回收试验** 精密吸取 2.3.2 项下对照品贮备液 (0.153 6 g·L<sup>-1</sup>) 5 mL, 置具塞锥形瓶中, 水浴上挥干溶剂, 平行制备 6 份, 再在每一份中加入已测知含量的忍冬藤药材 2 号样品粉末 {5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸质量分数为 7.114 mg·g<sup>-1</sup>} 约 0.125 g, 精密称定, 按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液各 20 μL, 按 2.3.1 项下色谱条件进样测定。表明测定方法的回收率良好, 结果见表 2。

**2.3.10 样品含量测定** 取收集的 8 批忍冬藤药材, 分别按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件进样测定, 结果见表 3。

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液制备方法的考察** 本文考察了水, 50% 甲醇, 甲醇 3 种溶剂的提取效果, 结果以水提取时含量测定结果远远高于另外两种提取溶剂, 因此选择水作为提取溶剂。但在考察过程中发现, 随着时间的推移, 水提液中 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸含量下降明显, 24 h 后峰面积降低一半, 忍冬藤水提液中可能存在某些酶类, 可以将目标成分降解。

以水煮提取、改变提取液 pH 及直接加热等方式对样品进行前处理, 均不同程度地增加了提取液

表 2 忍冬藤 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸加样回收试验

Table 2 Recovery test results of 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid in Lonicerae Japonicae Caulis

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.126 3	0.832 1	0.768 0	1.585 9	98.15	95.95	1.5
0.120 0	0.790 6	0.768 0	1.518 6	94.79		
0.125 3	0.825 5	0.768 0	1.568 0	96.68		
0.124 5	0.820 2	0.768 0	1.550 9	95.14		
0.120 1	0.791 3	0.768 0	1.514 8	94.21		
0.121 2	0.798 5	0.768 0	1.541 2	96.71		

表 3 忍冬藤样品中 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的含量(按干燥品计算)

Table 3 Contents (on the dried basis) of 5-O-(4'-O-glucosylcaffeoyl) quinic acid in Lonicerae Japonicae Caulis

药材来源	批号	产地	5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸/mg·g <sup>-1</sup>
山东菏泽泰山中药饮片有限公司	120320	山东	7.390
安徽亳州市永刚饮片厂有限公司	150411	山东	7.114
河北祁一堂药业有限公司	1502013	河南	4.638
安徽易元堂中药饮片科技有限公司	151109	湖北	1.737
河北楚风中药饮片有限公司	B510121	湖北	5.796
山东建联盛嘉中药饮片有限公司中药饮片厂	20150801	山东	6.816
中国食品药品检定研究院	1069-9901	-	4.370
自己采集	-	山东	4.063

样品中绿原酸的质量分数平均值为 1.5 mg·g<sup>-1</sup>。

8 批忍冬藤中 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸质量分数平均值为 5.2 mg·g<sup>-1</sup>，为绿原酸平均质量分数的 3.5 倍。5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸是绿原酸的单葡萄糖苷，在一定条件下可以转化为绿原酸。为了更加全面地反映药材的质量状况，建议增加 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸的含量测定项作为指标。按照含量平均值的 70% 制订限度，建议规定按照干燥品计算，忍冬藤中 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸含量不得低于 3.7 mg·g<sup>-1</sup>。

5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸极性大，水溶性良好，分离比较困难。本实验通过 D101 树脂柱，Sephadex LH-20 凝胶柱，制备 HPLC 等纯化技术，从忍冬藤中首次分离得到 5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸，报道其完整核磁数据，并建立了忍冬藤药材中该成分的

中目标成分的稳定性。其中，直接加热前处理效果最好，不仅增强了供试品溶液的稳定性，而且对目标成分破坏较小，含量测定结果最高。进而考察了不同加热温度(100,150,200 ℃)和加热时间(5,10,20 min)，最终确定前处理方式为 150 ℃ 加热 10 min。

另外，对取样量(0.125,0.25,0.375 g)和超声时间(15,30,45 min)也进行了优化。最终确定供试品溶液制备方法为取 0.25 g 样品 150 ℃ 加热 10 min，以水 50 mL 超声 30 min。

3.2 含量限度的制定 2015 年版《中国药典》一部对忍冬藤药材中绿原酸的含量进行控制，规定以干燥品计算含绿原酸不得低于 0.10%<sup>[1]</sup>。8 批忍冬藤

HPLC 含量测定方法。通过前处理，增加了供试品溶液中目标成分的稳定性，建立的含量测定方法准确可靠，重复性好，为忍冬藤药材的质量控制提供了参考。5-O-[4'-O-(β-D-吡喃葡萄糖基)咖啡酰基]奎宁酸在忍冬植株的茎、叶、花中的分布情况，以及该成分含量与药材产地、气候、采收季节的关系有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 193.  
[2] 贾献慧, 李静, 张永清. 忍冬藤化学成分研究进展[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(8): 641-643.  
[3] 文诗泳, 谭伟民, 龚力民, 等. 中药忍冬藤资源与质量控制的研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 335-338.  
[4] 贾献慧, 唐文照, 李佳, 等. 山东产忍冬藤乙酸乙酯部位化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 62-65.

- [ 5 ] 贾献慧,王晓,张永清. 忍冬藤酚酸类化学成分分离[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):69-71.
- [ 6 ] 张永欣,张启伟,李春,等. 忍冬叶中抗氧化化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(12):2372-2377.
- [ 7 ] 马双成,毕培曦,黄荣春,等. 金银花药材中抗呼吸道感染病毒的咖啡酰奎宁酸类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志,2005,25(7):751-755.
- [ 8 ] 宋亚玲,王红梅,倪付勇,等. 金银花中酚酸类成分及其抗炎活性研究[J]. 中草药,2015,46(4):490-495.
- [ 9 ] 张亚梅,刘梅,黄洁. 咖啡酰奎宁酸类化合物的合成进展[J]. 江西中医药,2012,43(8):77-80,71.
- [ 10 ] Park H J. Chemistry and pharmacological action of caffeoylquinic acid derivatives and pharmaceutical utilization of chwinamul ( Korean Mountainous vegetable) [ J ]. Arch Pharm Res, 2010, 33 ( 11 ): 1703-1720.
- [ 11 ] 贾献慧,王晓,张永清. 忍冬藤酚酸类化学成分分离[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(5):69-71.
- [ 12 ] 李思远,滕亮,詹羽姣,等. 沼生忍冬藤化学成分及3种成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(19):94-99.
- [ 13 ] 代晶,石明芯,王佳慧,等. 高效液相色谱法同时测定忍冬藤中7个活性成分的含量[J]. 中国测试,2015,41(8):44-47,55.
- [ 14 ] 马荣,殷志琦,张聪,等. 忍冬藤正丁醇萃取部位的化学成分[J]. 中国药科大学学报,2010,41(4):333-336.
- [ 15 ] Jaiswal R, Halabi E A, Karar M G, et al. Identification and characterisation of the phenolics of *Ilex glabra* L. Gray (Aquifoliaceae) leaves by liquid chromatography tandem mass spectrometry [ J ]. Phytochemistry, 2014, 106(10):141-155.
- [ 16 ] Jaiswal R, Müller H, Müller A, et al. Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. ( Caprifoliaceae ) leaves by LC-MS<sup>n</sup> [ J ]. Phytochemistry, 2014, 108:252-263.
- [ 17 ] 颜朦朦,肖世基,丁立生,等. 北栽秧花化学成分研究[J]. 中草药,2014,45(3):314-317.
- [ 18 ] 邱新建,赵海鹏,刘向东,等. 不同纯化方法对金银花提取物中咖啡酰奎宁酸类成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):83-86.
- [ 19 ] 刘晋仙,林永强,郭东晓. 基于 HPLC 指纹图谱抗感颗粒质量评价研究 [ J ]. 药学研究, 2016, 35 ( 11 ): 635-638.

[责任编辑 顾雪竹]