

HPLC 测定鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁的含量

李利华*

(陕西理工学院 化学与环境科学学院, 陕西 汉中 723000)

[摘要] 目的:测定鱼腥草不同部位中绿原酸和芦丁的含量,为鱼腥草资源的合理开发和综合利用提供依据。方法:采用 Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱,绿原酸流动相乙腈-0.1% 磷酸 (12:88),检测波长 326 nm,芦丁流动相甲醇-0.1% 磷酸 (50:50),检测波长 355 nm,流速均为 1.0 mL·min⁻¹。结果:绿原酸和芦丁的浓度与峰面积,分别在 9.8 ~ 68.6 μg ($r = 0.9997$), 9.6 ~ 67.2 μg ($r = 0.9985$) 呈良好的线性关系;平均加样回收率分别为 99.2%, 100.1%, RSD 分别为 1.47%, 2.12%。结论:鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁含量差异很大,叶中绿原酸和芦丁含量相对较高,根中绿原酸和芦丁含量相对较低。

[关键词] 高效液相色谱法; 鱼腥草; 不同部位; 绿原酸; 芦丁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0094-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120727.1109.011.html>

[网络出版时间] 2012-07-27 11:09

Determination of Chlorogenic Acid and Rutin in Different Parts of *Houttuynia Cordatas* by HPLC

LI Li-hua*

(Chemical and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content in roots, stems and leaves of *Houttuynia cordata*, and provide a scientific basis for the exploitation and utilization of its resources. **Method:** Chlorogenic acid and rutin were analyzed on a Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column. The mobile phase of chlorogenic acid was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:88), and the detection wavelength was set at 326 nm. The mobile phase of rutin was methanol-0.1% phosphoric acid (50:50), and the detection wavelength was set at 355 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The linear response ranged within 9.8-68.6 μg for chlorogenic acid ($r = 0.9997$), 9.6-67.2 μg for rutin ($r = 0.9985$). Recoveries were 99.2% with RSD 1.47% for chlorogenic acid, 100.1% with RSD 2.12% for rutin. **Conclusion:** There was a significant difference in the content of chlorogenic acid and rutin among the different parts of *H. cordata*. The content of chlorogenic acid and rutin in the sample from leaves was the highest than those from other parts, and it was lower in roots relatively.

[Key words] HPLC; *Houttuynia cordata*; different parts; chlorogenic acid; rutin

鱼腥草为三白草科植物蕺菜的新鲜全草或干燥地上部分。花期 5 ~ 8 月,果期 7 ~ 10 月,全草供药用^[1]。鱼腥草味辛,性微寒,具有清热解毒、消肿排

脓、利尿通淋之功效,有强抗菌抗病作用,而且具有丰富的营养成分,可药膳两用^[2-3],是国家卫生部正式确定的“药膳兼用型”植物资源之一,具有广阔的开发利用前景。

黄酮类化合物是当前抗感染领域的主要研究对象之一,许多黄酮类化合物具有抗菌、抗炎作用^[4]。现代药理研究认为,绿原酸具有抗菌解毒,消炎利胆之功效,临床用于治疗急性细菌感染等引起的疾

[收稿日期] 20111231(008)

[基金项目] 陕西理工学院校级重点资助科研项目(SLGKY11-09)

[通讯作者] *李利华,硕士,实验师,从事药用植物有效成分的分析、检测, Tel:0916-2642766, E-mail: lilhqmln@126.com

病^[5]。芦丁具有降低毛细血管通透性、抗炎、抗病毒、镇痛、抗氧化及抑制醛糖还原酶等药理活性,临床用于防止脑溢血、高血压等心脑血管疾病^[6-7]。绿原酸、芦丁是鱼腥草的有效活性成分之一,其含量是衡量鱼腥草药用价值的重要指标。有关植物中的绿原酸、芦丁定量分析已有大量报道^[8-10],但对鱼腥草不同药用部位中绿原酸和芦丁含量测定的文献报道较少。本文采用高效液相色谱法对汉中地区野生鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁的含量进行测定和比较,为鱼腥草作为原料药的选择、进一步的研发和质控评价提供依据。

1 材料

Agilent 1200LC 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司),GR-200 型电子分析天平(日本 A&D 公司);SD-5200DT 型超声波清洗仪(宁波新芝科技股份有限公司)。

绿原酸对照品(批号 110753-200413),芦丁对照(批号 100080-200306),由中国药品生物制品检定所提供。甲醇、乙腈均为色谱纯,磷酸为分析纯,水为新鲜超纯水。

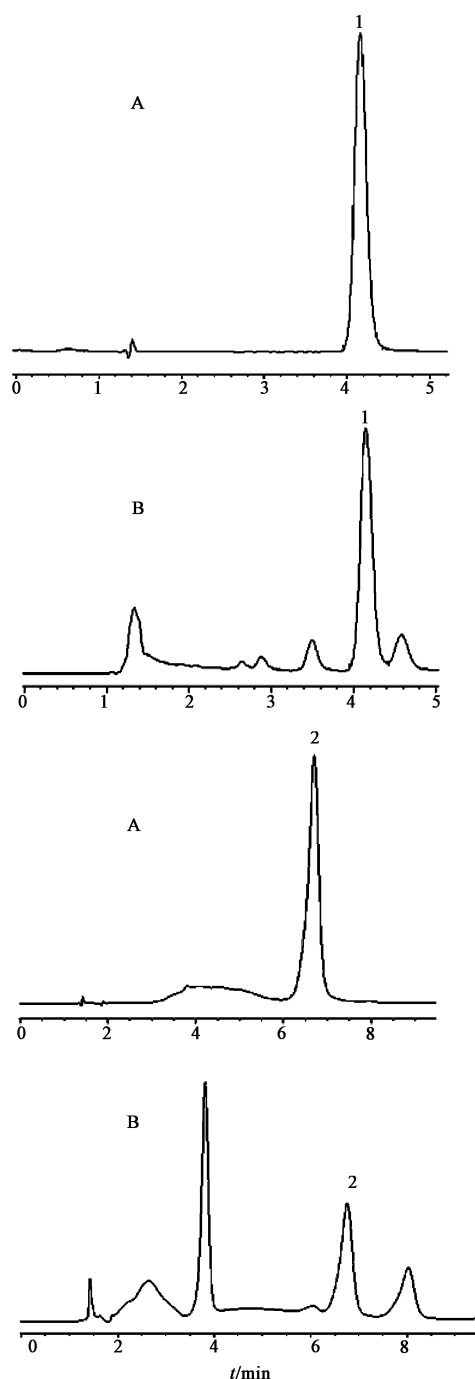
新鲜鱼腥草:3 批样品于 4 月中旬采挖于汉中地区不同山区(经陕西理工学院生物学院植物学教研室赵桦教授鉴定为三白科植物鱼腥草)。将鱼腥草全草洗净,根、茎、叶分别低温烘干至恒重,粉碎,过 40 目筛备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 10 μL,绿原酸流动相乙腈-0.1% 磷酸(12:88),检测波长 326 nm;芦丁流动相甲醇-0.1% 磷酸(50:50),检测波为 355 nm。理论板数按绿原酸峰、芦丁计算均不低于 2 000。绿原酸、芦丁与其他组分峰的分离度均 > 1.5,该色谱条件下的色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 4.9 mg,用甲醇溶解,定容于 50 mL 棕色量瓶中,制得浓度为 98 mg·L⁻¹的标准储备液。精密称取芦丁对照品 4.8 mg,用甲醇溶解,定容于 50 mL 量瓶中,制得浓度为 96 mg·L⁻¹的标准储备液。

2.3 供试品溶液的制备 分别精密称取鱼腥草根、茎、叶粉末 0.50 g,各加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得绿原酸供试品溶液。分别精密称取鱼腥草叶粉末 0.25 g,根和茎粉末各 1.50 g,各加入甲醇



A. 对照品; B. 供试品; 1. 绿原酸; 2. 芦丁

图 1 对照品与供试品 HPLC

25 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得芦丁供试品溶液。

2.4 线性关系的考察 分别精密量取适量的绿原酸和芦丁对照品溶液,逐级稀释成 9.8, 19.6, 29.4, 39.2, 49.0, 58.8, 68.6 mg·L⁻¹的绿原酸对照品溶液和 9.6, 19.2, 28.8, 38.4, 48.0, 57.6, 67.2 mg·L⁻¹的芦丁对照品溶液。按 2.1 项下方法进行 HPLC 分析。以对照品浓度 C (mg·L⁻¹) 为横坐标, 相应峰

面积 A 为纵坐标绘制标准曲线, 计算得到绿原酸回归方程为 $A = 13.138C - 7.242 (r = 0.9997)$; 芦丁回归方程为 $A = 4.894C + 0.772 (r = 0.9985)$ 。结果表明, 绿原酸在 $9.8 \sim 68.6 \mu\text{g}$, 芦丁在 $9.6 \sim 67.2 \mu\text{g}$ 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 分别精密吸取绿原酸供试品溶液、芦丁供试品溶液 $10 \mu\text{L}$, 在 **2.1** 项色谱条件下, 重复进样 7 次, 分别计算绿原酸和芦丁的峰面积 RSD, 得绿原酸 RSD 1.61%、芦丁 RSD 1.27%, 表明仪器进样精密度良好。

2.6 稳定性试验 分别取同一份鱼腥草叶绿原酸供试品溶液和芦丁供试品溶液, 室温放置, 于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 在 **2.1** 项色谱条件下分别进样分析, 记录色谱峰面积。计算得绿原酸峰面积的 RSD 1.77%, 芦丁峰面积的 RSD 1.45%, 表明供试溶液在室温下 12 h 内保持稳定。

2.7 重复性试验 分别取同一批鱼腥草叶样品各 6 份, 按 **2.3** 项下方法平行制备绿原酸和芦丁供试品溶液, 按 **2.1** 项下方法操作, 在上述色谱条件下进行测定, 计算绿原酸平均含量为 $2.212 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (RSD 2.25%), 芦丁平均含量为 $6.114 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (RSD 1.88%), 表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批鱼腥草叶样品 6 份, 分别精密加入一定量的绿原酸和芦丁对照品, 按 **2.3** 项下方法制备供试品溶液, 按 **2.1** 项色谱条件进样分析, 测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 绿原酸和芦丁加样回收率试验 ($n=6$)

成分	取样量 /mg	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
绿原酸	253.4	0.560	0.5	1.066	101.2	99.2	1.47
	251.6	0.556	0.5	1.059	100.6		
	254.7	0.563	0.5	1.050	97.4		
	250.5	0.554	0.5	1.047	98.6		
	255.2	0.565	0.5	1.056	98.2		
	252.7	0.559	0.5	1.056	99.4		
芦丁	125.3	0.766	0.8	1.548	97.8	100.1	2.12
	125.7	0.768	0.8	1.591	102.9		
	124.8	0.763	0.8	1.581	102.3		
	125.6	0.768	0.8	1.556	98.5		
	126.1	0.771	0.8	1.573	100.2		
	124.3	0.760	0.8	1.550	98.7		

2.9 样品含量的测定 分别取不同产地的鱼腥草样品 3 批, 按 **2.3** 项下方法操作, 在 **2.1** 项下色谱条

件下进样分析, 外标法计算鱼腥草不同部位中绿原酸和芦丁的含量, 结果见下表 2。

表 2 不同产地鱼腥草样品中绿原酸和芦丁含量 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

样品	来源地	绿原酸	平均值	芦丁	平均值
鱼腥草根	汉中西乡	1.103	1.102	0.180	0.179
	汉中宁强	1.096		0.178	
	汉中留坝	1.107		0.178	
鱼腥草茎	汉中西乡	1.921	1.951	0.639	0.639
	汉中宁强	1.985		0.639	
	汉中留坝	1.948		0.638	
鱼腥草叶	汉中西乡	2.010	2.106	6.025	6.050
	汉中宁强	2.212		6.114	
	汉中留坝	2.095		6.011	

3 讨论

采用二极管阵列检测器在在 $190 \sim 600 \text{ nm}$ 分别扫描对照品和供试品溶液中绿原酸和芦丁的紫外吸收, 对照品和供试品溶液相同保留值处紫外光谱一致。326, 355 nm 处主峰与杂质峰能基线分离, 检测灵敏度高, 故确定绿原酸检测波长为 326 nm, 芦丁检测波长为 355 nm。在选择流动相时, 在查阅文献和有关标准^[11-12]的基础上, 经过反复试验, 最终确定流动相为乙腈-0.1% 磷酸 (12:88) 检测绿原酸, 甲醇-0.1% 磷酸 (50:50) 检测芦丁, 待测组分与其他组分能够有效分离, 且保留值适宜。

由鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁含量测定的结果看出, 鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁含量差异较大, 各部位中绿原酸和芦丁含量高低顺序均为叶 > 茎 > 根, 叶中绿原酸平均含量为 $2.106 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其含量是根中绿原酸含量的 1.91 倍, 是茎中绿原酸含量的 1.08 倍; 叶中芦丁的平均含量 $6.050 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其含量是根中芦丁含量的 33.80 倍, 是茎中芦丁含量的 9.47 倍。本研究结果提示, 鱼腥草叶是绿原酸和芦丁的一个重要来源, 为全面综合利用鱼腥草植物提供了有力的依据。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010;208.
 [2] 魏秀俭, 郭彦, 时明芝. 绿色食药明珠——鱼腥草[J]. 中国食物与营养, 2006, 12(1):56.
 [3] 余虹. 要食两用佳品——鱼腥草[J]. 中国药业, 2010, 19(4):60.
 [4] 涂华, 陈碧琼, 张燕军. 天然类黄酮物质的提取工艺研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6):277.

HPLC 测定不同产地佛手中橙皮苷的含量

曾建伟¹, 吴锦忠¹, 林忠宁^{2*}, 陈敏健²

(1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福州 350108;
2. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福州 350013)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定不同产地佛手中橙皮苷的含量。方法: 采用 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-2% 醋酸溶液 (18:82), 体积流量 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 284 nm, 柱温 30 °C。结果: 橙皮苷在 2.24 ~ 44.8 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 98.55%, RSD 0.97% ($n=6$)。结论: 该方法简便, 准确, 可用于佛手药材的品质评价。

[关键词] 佛手; 橙皮苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0097-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1140.013.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 11:40

Determination of Hesperidin in Fructus Citris Sarcodactylis from Different Provenances by HPLC

ZENG Jian-wei¹, WU Jing-zhong¹, LIN Zhong-ning^{2*}, CHEN Min-jian²

(1. Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China;
2. Institute of Agricultural Ecology, Fujian Academy of Agriculture Sciences, Fuzhou 350013, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method of determining the content of hesperidin in Fructus Citris Sarcodactylis from different provenances. **Method:** An ultimate XB-C₁₈ column was used. The mobile phase was acetonitrile and 2% acetic acid solution (18:82). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ with the column

[收稿日期] 20111109(016)

[基金项目] 福州市科技计划项目(2010-PT-130)

[第一作者] 曾建伟, 助理研究员, 从事中药分析, Tel:0591-22861255, E-mail: zjwtem@qq.com

[通讯作者] * 林忠宁, 副研究员, 从事中药材开发利用研究, E-mail: lzhongning@126.com

- [5] 方华民, 周凯, 鞠爱华. 高效液相色谱法测定薯蓣中绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(6): 785.
- [6] 田代毕. 实用中药大辞典. 下卷[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1199.
- [7] 牛迎风, 邵赞, 赵晓辉, 等. 几种花类药材中芦丁含量的测定[J]. 分析实验室, 2008, 27(5): 26.
- [8] 陈秋虹, 徐慧, 蒋艳芳. 高效液相色谱法测定桑叶中的绿原酸和芦丁的含量[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(5): 663.
- [9] 吴迪, 王峥涛, 张勉. 高效液相色谱法同时测定款冬花中芦丁、异槲皮苷、绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2722.
- [10] 张文懿, 杨天寿, 王旭鹏, 等. HPLC 法测定款冬花中绿原酸和芦丁的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(12): 2106.
- [11] 沙世炎. 中草药有效成分分析法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 511.
- [12] 裴香萍, 杜晨晖, 阎艳, 等. HPLC-UV 测定不同产地及不同采收期酸枣叶中芦丁的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 94.

[责任编辑 顾雪竹]