

北五加皮不同时间水提物中绿原酸含量的变化研究

关颖丽¹, 蔡黎明¹, 杨荣艳²

(1. 通化师范学院 制药与食品科学系, 吉林 通化 134002; 2. 吉林省四平市食品药品检验所, 吉林 通化 136001)

摘要:利用 HPLC 法研究了北五加皮不同时间水提物中绿原酸含量的变化规律。采用色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.4% 磷酸溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱[0~8 min 24%B; 8~12 min 50%B], 检测波长 278 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 25℃。结果表明:绿原酸的最佳提取时间为 2 h, 该方法简单快速、可行, 含量测定准确。

关键词:北五加皮; 绿原酸; HPLC

中图分类号:S 567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)10-0154-02

北五加皮为萝藦科杠柳属植物杠柳(*Periplocca sepium* Bge.)的干燥根皮, 又称香加皮^[1]。主要分布于我国山西、河南、河北等地。其功效为祛风湿、强筋骨, 临床主要用于治疗充血性心力衰竭和风湿性关节炎。北五加皮药材有毒, 不宜过量和长期服用, 否则易造成心衰甚至死亡。目前文献报道^[2-4]中主要是对北五加皮醇提取物中的杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛等成分进行研究, 而对其所含的绿原酸未见研究报道。因此该试验利用 HPLC 法对北五加皮的不同时间水提物中绿原酸的含量变化规律进行系统的研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料购自吉林省通化市医药大厦, 经通化师范学院于俊林教授鉴定为北五加皮; 绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-200413), 水(娃哈哈纯净水), 乙腈为色谱纯, 甲醇、磷酸为分析纯。

试验仪器: 美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪(包括 1100 四元泵、柱温箱、二级管阵列检测器、Agilent 化学工作站), KQ-200KDB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), AL104 1/10 万电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C18 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.4% 磷酸溶液(A)-

乙腈(B), 梯度洗脱[0~8 min 24%B; 8~12 min 50%B]; 检测波长 278 nm; 柱温 25℃; 流速 1.0 mL/min; 理论塔板数按绿原酸峰计算应不低于 1 500^[5]。

1.2.2 对照品溶液配制 精密称取绿原酸, 以甲醇溶解并定容, 制成浓度为 0.2565 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

1.2.3 供试品溶液制备 精密称取北五加皮粉末 9.9827 g, 置圆底烧瓶中, 加水 250 mL 进行回流提取, 分别在 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8 h 各时间点吸取 20 mL 水提液, 吸取后及时向圆底烧瓶中补充 20 mL 水。将各提取液浓缩至干, 用 60% 的甲醇溶解并定容至 25 mL 容量瓶中。用前过滤, 取续滤液作为供试品溶液备用。

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察

精密吸取绿原酸对照品溶液 5、10、15、20、25 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品进样量 X 为横坐标, 峰面积值 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=21564X+1.4695$, $r=0.9995$ ($n=5$)。结果表明, 绿原酸在 0.0013~0.0641 mg 范围内, 具有良好的线性关系。

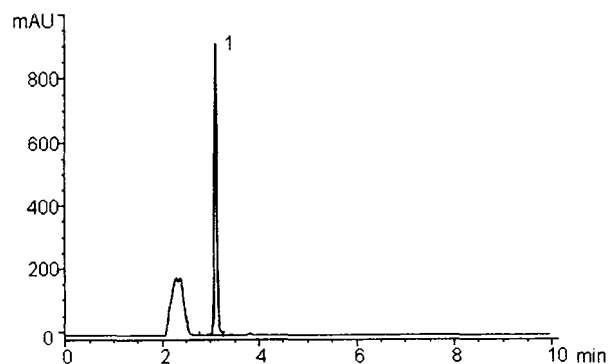


图1 绿原酸对照品溶液的 HPLC 谱图

第一作者简介:关颖丽(1974-), 女, 吉林通化人, 副教授, 硕士, 现主要从事生药有效成分的分离鉴定及生物活性研究工作。E-mail: guanyingli7151@126.com。

基金项目:吉林省教育厅科研基金资助项目(吉教科合字[2009]第 464 号)。

收稿日期:2011-02-28

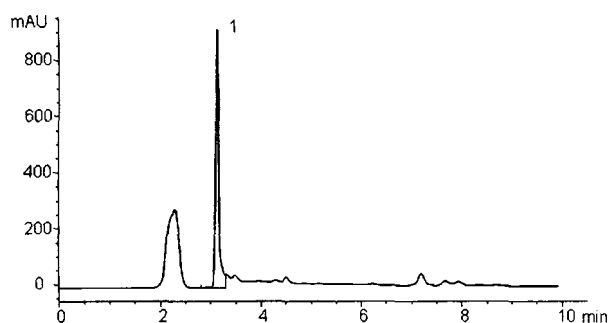


图2 1号北五加皮供试品溶液的 HPLC 谱图

2.2 含量测定方法的考察

精密度试验结果显示, $RSD=0.59\%$ ($n=5$), 表明仪器的精密度良好; 稳定性试验结果显示, $RSD=0.14\%$ ($n=5$), 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定; 重复性试验结果显示, $RSD=1.09\%$ ($n=5$), 表明方法的重现性良好; 加样回收率试验结果显示, 平均回收率为 98.7%, RSD 值为 1.15% ($n=5$), 表明测定方法稳定可靠。

2.3 样品中绿原酸的测定

精密吸取按供试品溶液方法制备的 8 个北五加皮

表1 北加皮的不同时间水提取物中绿原酸的含量测定结果 ($n=3$)

编号	提取时间/h	绿原酸平均含量/%
1	0.5	0.54
2	1	0.59
3	1.5	0.63
4	2	0.64
5	3	0.61
6	4	0.51
7	6	0.53
8	8	0.41

不同时间水提取物的供试品溶液各 20 μ L, 按上述色谱条件, 平行进样 3 次, 测得各供试品溶液中绿原酸平均含量, 色谱图见图 1、2 (1 为绿原酸峰信号), 结果见表 1。

3 结论与讨论

从测定结果可以看出, 在 0.5~2 h 之间, 北五加皮水提取物中绿原酸的含量随着提取时间的延长而逐渐升高。但当超过 2 h 以后, 可能由于其它物质的逐渐溶出, 化学成分之间存在着一定的物理及化学变化, 导致绿原酸含量有所降低。因此北加皮水提取物中绿原酸的最佳提取时间为 2 h。同时此项研究建立了 HPLC 法测定北五加皮中绿原酸含量的方法, 该方法简单、快速, 检测方法可行, 含量测定准确。

绿原酸是一种重要的生物活性物质, 具有抗菌、降压、保肝利胆等作用。据文献资料记载, 绿原酸并非北五加皮的主要化学成分, 但从试验结果可看出, 绿原酸的含量也较大, 可为进一步研究及开发北五加皮的新药资源及其临床安全性评价提供一定的参考依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典[M]. 1 部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 240-241.
- [2] 佟玲, 谭晓杰, 林景瑞, 等. RP-HPLC 法测定香加皮中异香草醛杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 961-963.
- [3] 任晓亮, 刘虹, 戚爱棣, 等. HPLC 法同时测定香加皮中杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的方法改进[J]. 天津中医药, 2007, 24(4): 252-254.
- [4] 刘虹, 杨虹, 孙巍, 等. HPLC 法测定香加皮中杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛[J]. 天津中医药, 2006, 23(1): 464-466.
- [5] 胡彦武, 李敏玲, 王娇, 等. 长白山区野生金银忍冬茎和叶提取液中绿原酸的检测及其体外抑菌研究[J]. 北方园艺, 2010(9): 172-173.

Study on the Content Change of the Chlorogenic Acid in Water Extract of *Cortex periplocae* at the Different Times

GUAN Ying-li¹, CAI Li-ming¹, YANG Rong-yan²

(1. Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Teachers College, Tonghua, Jilin 134002; 2. Siping Institute of Pharmaceutical and Food, Siping, Jilin 136001)

Abstract: The content change of chlorogenic acid in water extract of *Cortex periplocae* at the different times were determined by HPLC. The ZORBAX SB-C18 column (150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) was used, the mobile phase was 0.4% phosphoric acid solution (A)-methyl cyanide (B), the gradient elution [0~8 min 24% B; 8~12 min 50% B]. The flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 278 nm. The temperature of column was 25 $^{\circ}$ C. The results showed that two hours was the best time to extraction of chlorogenic acid. The method was simple, fast, feasible and accurate.

Key words: *Cortex periplocae*; chlorogenic acid; HPLC