

# HPLC 法测定滇桂艾纳香中原儿茶酸和原儿茶醛的含量

蒋冰清, 罗盛东

(广西万寿堂药业有限公司, 广西 南宁 530219)

**摘要:**为了测定壮药材滇桂艾纳香中原儿茶酸和原儿茶醛的含量,利用高效液相色谱法测定 6 批壮药滇桂艾纳香药材原儿茶酸和原儿茶醛的含量。结果表明:原儿茶酸、原儿茶醛分别在 5.008~25.040 及 5.344~26.720  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内呈现良好的线性关系;原儿茶酸和原儿茶醛平均回收率分别为 98.61% 和 98.07%, RSD 分别为 1.44% 和 1.99%。

**关键词:**高效液相色谱;滇桂艾纳香;原儿茶酸;原儿茶醛

**中图分类号:**R284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)03-0120-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.03.0120

滇桂艾纳香为菊科植物滇桂艾纳香 [*Blumea riparia* (Bl.) DC.] 的干燥全草,主要生长在广西西北地区及云南东南部<sup>[1]</sup>。其具有活血、止血、利水的功效,用于经期提前、产后血崩、产后浮肿、不孕症及阴疮等病的治疗。其标准在广西壮族自治区的《壮药质量标准》(第一卷)未见有含量测定,本文利用高效液相色谱对滇桂艾纳香中原儿茶酸和原儿茶醛含量进行测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试原儿茶酸(批号 110809-200604)对照品购自中国药品生物制品检定所。原儿茶醛对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110810-200506)。供试仪器有 Agilent1100 高效液相色谱仪;BP211D 型电子分析天平;PS-60AL 超声波清洗仪(40 kHz,360 W);甲醇、冰醋酸为色谱纯,其它试剂均为分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 对照品制备** 精密称取原儿茶酸对照品 6.26 mg、原儿茶醛对照 6.68 mg,分别置于 25 mL 容量瓶中,用甲醇摇匀,定容,作为原儿茶酸、原儿茶醛对照品储备液;分别精密量取上述储备液原儿茶酸 5 mL、原儿茶醛 2 mL,置 50 mL 容量瓶中,摇匀,定容,即得含原儿茶酸 25.04  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  和原儿茶醛 10.688  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混

合对照品溶液。

**1.2.2 供试品溶液制备** 取滇桂艾纳香药材粗粉约 5 g,精密称定,加水 200 mL,浸泡 30 min,煎煮 3 次,每次 1.5 h,滤过,合并滤液,滤液浓缩至约 40 mL,用稀盐酸调 pH2~3<sup>[3]</sup>,用乙醚萃取 4 次(20、15、15、15 mL),合并乙醚液,置于盛有 2 g 无水硫酸钠的锥形瓶中静置 15 min,分取乙醚液,蒸干,残渣加甲醇溶解,并转移至 10 mL 容量瓶中,摇匀,定容,用 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜滤过。

**1.2.3 色谱条件** 依利特 ODS C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm;5  $\mu\text{m}$ );流动相由甲醇(A)和 1% 冰醋酸(B)组成<sup>[2]</sup>;进行梯度洗脱,在 0~6 min,10% 甲醇洗脱,6~12 min,15% 甲醇洗脱,10~20 min,15% 甲醇洗脱,20~25 min,45% 甲醇洗脱,25~45 min,45% 甲醇洗脱。检测波长为 280 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25℃。在此条件下分别吸取对照品溶液、供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪。对照品采用外标法计算。

**1.2.4 线性关系考察** 分别吸取对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0 mL,置于 25 mL 容量瓶中,甲醇定容,摇匀。再分别吸取上述溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪中,测定原儿茶酸和原儿茶醛的峰面积。

**1.2.5 精密度试验** 吸取原儿茶酸和原儿茶醛的混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪中进行测定,平行测定 5 次。

**1.2.6 稳定性试验** 吸取同批滇桂艾纳香药材制成的供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪中,分别于 0、2、4、8 和 12 h 进行测定,平行测定 5 次。

**1.2.7 重复性试验** 取同批滇桂艾纳香药材粗

收稿日期:2014-11-28

**第一作者简介:**蒋冰清(1984-),女,广西壮族自治区兴安县人,助理工程师,从事中成药及中药材的有效成分提取及质量分析研究。E-mail:274494130@qq.com。

粉5份,每份约5 g,精密称量,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定原儿茶酸及原儿茶醛的含量。

1.2.8 加样回收试验 取同一批次的滇桂艾纳香粗粉(原儿茶酸含量 $61.22\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、原儿茶醛含量 $32.27\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )约2.5 g,共5份,分别加入5 mL  $25.04\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 原儿茶酸对照品,5 mL 原儿茶醛对照( $10.688\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),按1.2.2方法制得供试品溶液,并按此色谱条件测定原儿茶酸、原儿茶醛的含量,计算加样回收率。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件的选择

根据文献资料可知<sup>[1]</sup>,原儿茶酸的最大吸收波长为256 nm,而原儿茶醛的最大吸收波长为280 nm。为了原儿茶酸和原儿茶醛的峰都能检测到,故本试验采用280 nm作为检测波长。在此色谱条件可将供试品溶液中原儿茶酸、原儿茶醛与其它成分峰分离,图谱见图1与图2。

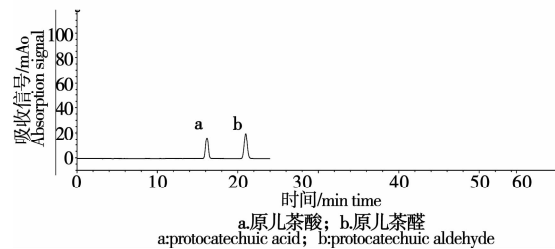


图1 对照品的HPLC的色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of CK

### 2.2 线性关系考察

以对照品溶液浓度为横坐标,分别以原儿茶酸、原儿茶醛峰面积积分值为纵坐标,制得标准曲

线,回归方程分别为: $Y=16.362X-0.52$ ,  $R^2=0.9997$  ( $n=5$ );  $Y=49.317X+7.43$ ,  $R^2=0.9994$  ( $n=5$ ),原儿茶酸和原儿茶醛线性范围分别为 $5.008\sim25.040$ 和 $5.344\sim26.720\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 有良好的线性关系。

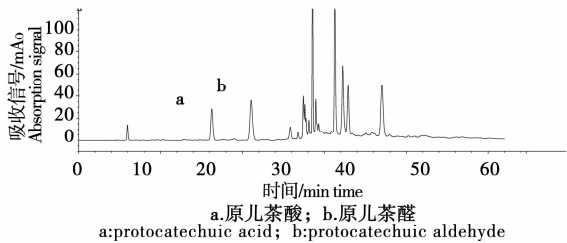


图2 供试品的HPLC的色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of samples

### 2.3 精密度分析

原儿茶酸、原儿茶醛峰面积的平均值分别为411.3和545.4;RSD分别为0.70%和0.97% ( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.4 稳定性分析

原儿茶酸、原儿茶醛峰面积的平均值分别为505.7和822.9;RSD分别为0.98%和0.59% ( $n=5$ ),表明样品溶液在12 h内具有较好的稳定性。

### 2.5 重复性检验

原儿茶酸和原儿茶醛的平均含量分别为61.22和 $32.27\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD分别为0.53%和0.69% ( $n=5$ ),表明该方法重现性较好。

### 2.6 加样回收结果分析

由表1可知,原儿茶酸、原儿茶醛平均加样回收率分别为98.61%和98.07%,RSD分别为1.44%和1.99% ( $n=5$ )。

表1 加样回收率结果分析  
Table 1 Analysis on recovery

称样量/g Sample weight	原儿茶酸 Protocatechuic acid				原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde			
	取样量/mg Sample weight	加入量/mg Addition weight	实测量/mg Measured weight	回收率/% Recovery	取样量/mg Sample weight	加入量/mg Addition weight	实测量/mg Measured weight	回收率/% Recovery
2.5012	0.1531	0.1252	0.2755	97.76	0.08071	0.05344	0.1342	100.09
2.5019	0.1532	0.1252	0.2768	98.72	0.08073	0.05344	0.1341	99.87
2.5051	0.1534	0.1252	0.2780	99.52	0.08084	0.05344	0.1320	95.73
2.5044	0.1533	0.1252	0.2789	100.32	0.08082	0.05344	0.1324	96.52
2.5027	0.1532	0.1252	0.2743	96.73	0.08076	0.05344	0.1332	98.13

### 2.7 样品含量测定

由表2可知,6批壮药滇桂艾纳香药材含量

测定中原儿茶酸的最高含量达到 $79.75\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,最低含量是 $55.67\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,而原儿茶醛的最高含

量达到 36.12 mg·g<sup>-1</sup>,最低含量是27.35 mg·g<sup>-1</sup>。结果表明,不同产地的壮药滇桂艾纳香药材中原儿茶酸和原儿茶醛的含量差异也较大。

表 2 供试品原儿茶酸和原儿茶醛含量测定结果  
Table 2 Protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde content of samples

产地 Original	原儿茶酸/ (mg·g <sup>-1</sup> ) Protocatechuic acid	RSD/%	原儿茶醛 / (mg·g <sup>-1</sup> ) Protocatechuic aldehyde	RSD/%
田阳 Tianyang	79.75	1.09	36.12	2.10
凌云 Lingyun	66.17	1.27	32.58	1.96
百色 Baise	58.49	1.04	29.54	1.57
田林 Tianlin	63.18	0.94	30.66	1.62
靖西 Jingxi	62.03	1.63	31.81	1.28
龙州 Longzhou	55.67	1.17	27.35	1.48

3 结论与讨论

水提取液浓缩后,用乙酸乙酯、乙醚及水饱和

正丁醇等溶剂萃取,进样分析,乙醚萃取的峰好一些,在 pH2~3 的酸性条件下,用乙醚萃取提取完全,峰型好。故本法采用稀盐酸调 pH2~3 后,乙醚萃取进行前处理。选择甲醇:冰醋酸:水=10:90:1,甲醇:1%冰醋酸=90:10,甲醇:水=20:80,用冰醋酸调 pH2.8;结果表明,0~6 min,10%甲醇洗脱,6~12 min,15%甲醇洗脱,10~20 min,15%甲醇洗脱,20~25 min,45%甲醇洗脱,25~45 min,45%甲醇洗脱,作为流动相进行洗脱,得到分散度好的色谱峰,供试品中原儿茶酸与原儿茶醛的分离度也较高。

本试验建立了 HPLC 测定壮药材滇桂艾纳香中原儿茶酸和原儿茶醛的色谱条件,并对该测定方法进行了方法验证。结果表明,该法线性关系良好,回收率、精密度高,重复性良好,具有准确、灵敏的特点,可作为壮药材滇桂艾纳香质量控制与评价的方法之一。

参考文献:

[1] 王治平,杨珂,孟祥平,等. RP-HPLC 法测定滇桂艾纳香中原儿茶酸与原儿茶醛的含量[J]. 中药材,2005,15(5):393-394.  
[2] 郑维兵. RP-HPLC 法测定急支糖浆中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J]. 儿科学杂志,2010,16(4):51-52.  
[3] 邢俊波,王朝红. HPLC 法测定肺炎平胶囊中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J]. 中国实验方剂杂志,2008(3):8-12.

Determination of Protocatechuic Acid and Protocatechuic Aldehyde in *Blumeae ripariae* by HLPC

JIANG Bing-qing, LUO Sheng-dong

(Guangxi Medic Top Pharmaceutical Company Limited ,Nanning,Guangxi 530219)

**Abstract:** To develop an HPLC method for determination of protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde in Diangui ainaxiang, protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde of *Blumeae ripariae* from six origin were determined by HLPC. The results showed that protocatechuic acid had linear relationship in the range of 5.008~25.04 μg, protocatechuic aldehydethe had linear relationship in the range of 5.344~26.72 μg, the recovery was 98.61% and 98.07% respectively, RSD was 1.44% and 1.99% respectively.

**Keywords:** HLPC; *Blumeae ripariae*; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde