

[ 5 ]

Campo G, Marchesini J, Bristot L, *et al.* The in vitro effects of verbascoside on human platelet aggregation[ J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2012, 34(3): 318-325.

[ 6 ]

薛恒跃, 王钢力, 李 萍, 等. 萝卜秦艽化学成分的研究(Ⅳ)[J]. *中国药学杂志*, 2008, 43(10): 739-741.

[ 7 ]

李医明, 蒋山好, 高文运, 等. 玄参中的苯丙素苷成分[J]. *中草药*, 1999, 30(7): 487-490.

[ 8 ]

Kanchanapoom T, Kasai R, Yamasaki K. Phenolic glycosides from *Markhamia stipulata*[J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(5): 557-563.

[ 9 ]

Popov S, Marekov N. A new iridoid precursor of gentiopicroside[J]. *Phytochemistry*, 1971, 10: 3077-3079.

[10]

余振喜, 王钢力, 边巴次仁, 等. 萝卜秦艽化学成分的研究 I [J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(8): 656-658.

[11]

杨永利, 郭守军, 孙 坤, 等. 中药糙苏亲水性化学成分的研究[J]. *兰州大学学报 (自然科学版)*, 2004, 40(2): 67-71.

[12]

张 超. 藏药螃蟹甲的化学成分研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2011.

[13]

Takeda Y, Matsumura H, Masuda T, *et al.* Phlorigidiosides A-C, iridoid glucosides from *Phlomis rigida*[J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(8): 931-935.

[14]

郭林新, 马养民, 乔 珂, 等. 三叶木通化学成分及其抗氧化活性[J]. *中成药*, 2017, 39(2): 338-342.

## 扭肚藤 UPLC 指纹图谱建立及 2 种成分测定

胥爱丽<sup>1,2</sup>, 毕晓黎<sup>2</sup>, 刘布鸣<sup>3</sup>, 江洁怡<sup>2</sup>, 陈 昭<sup>2</sup>, 丁 平<sup>1</sup>

[1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广东省中医药工程技术研究院 (广东省中医药研究开发重点实验室), 广东 广州 510095; 3. 广西中医药研究院 (广西中药质量标准研究重点实验室), 广西 南宁 530022]

**摘要:** **目的** 建立扭肚藤 *Jasminum elongatum* (Bergium) Wild. UPLC 指纹图谱, 并测定异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯的含有量。**方法** 扭肚藤甲醇提取物的分析采用 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 乙腈-0.1% 甲酸为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 260 nm。**结果** 10 批样品指纹图谱中有 18 个共有峰, 相似度均大于 0.85。异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯分别在 7.67 ~ 38.35 μg/mL ( $R^2 = 0.999\ 4$ ) 和 9.60 ~ 96.0 μg/mL ( $R^2 = 0.999\ 7$ ) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 98.61%、99.09%, RSD 分别为 0.84%、1.25%。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于扭肚藤的质量控制。

**关键词:** 扭肚藤; UPLC 指纹图谱; 异绿原酸 B; 咖啡酸甲酯

**中图分类号:** R284.1                      **文献标志码:** A                      **文章编号:** 1001-1528(2018)03-0632-06

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.026

## Establishment of UPLC fingerprints of *Jasminum elongatum* and determination of two constituents

XU Ai-li<sup>1,2</sup>, BI Xiao-li<sup>2</sup>, LIU Bu-ming<sup>3</sup>, JIANG Jie-yi<sup>2</sup>, CHEN Zhao<sup>2</sup>, DING Ping<sup>1</sup>

[1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Provincial Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing (Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development of Traditional Chinese Medicine), Guangzhou 510095, China; 3. Guangxi Institute of Traditional Chinese Medicine & Pharmaceutical Sciences (Guangxi Key Laboratory of Traditonal Chinese Medicaine Quality Stardands), Nanning 530022, China]

**ABSTRACT: AIM** To establish the UPLC fingerprints of *Jasminum elongatum* (Bergium) Wild. and to deter-

**收稿日期:** 2017-07-10  
**基金项目:** 广西中药质量标准研究重点实验室开放课题资助项目 (201402); 广东省科技计划项目 (2017A070701017, 2015B070701010); 佛山市科技创新专项资金 (2013GQ100032)

**作者简介:** 胥爱丽 (1981—), 女, 博士生, 研究方向为中药质量评价。Tel: (020) 83482098, E-mail: xal555@163.com  
**\* 通信作者:** 丁 平 (1965—), 女, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药资源及质量评价。Tel: 13533711876, E-mail: dingpinggz@126.com

mine the contents of isochlorogenic acid B and ethylcaffeate. **METHODS** The analysis of methanol extract of *J. elongatum* was developed on a 25 °C thermostatic Agilent Ecplise XDB-C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% methanoic acid flowing at 0.5 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 260 nm. **RESULTS** There were eighteen common peaks in the fingerprints of ten batches of samples, with the similarities of more than 0.85. Isochlorogenic acid B and ethylcaffeate showed good linear relationships within the ranges of 7.67 – 38.35 μg/mL ( $R^2 = 0.999\ 4$ ), 9.60 – 96.0 μg/mL ( $R^2 = 0.999\ 7$ ), whose average recoveries were 98.61%, 99.09% with the RSDs of 0.84%, 1.25%, respectively. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the quality control of *J. elongatum*.

**KEY WORDS:** *Jasminum elongatum* (Bergium) Wild.; UPLC fingerprints; isochlorogenic acid B; methylcaffeate

扭肚藤 *Jasminum elongatum* (Bergium) Wild. 为木犀科素馨属植物。因其善于治疗湿热腹痛泻痢，故名扭肚藤，别名白花茶、假素馨、猪肚勒、左扭藤、毛毛茶<sup>[1-2]</sup>，味微苦、性凉，归胃、大肠经，具有清热解毒，利湿消滞的功效<sup>[3]</sup>，主产于广东、海南、广西等地<sup>[4]</sup>，为岭南特色中药。扭肚藤临床上可用于治疗湿热泻痢、食滞腕胀、风湿热痹等病症<sup>[2-3]</sup>，尤其在治疗腹泻、腹痛方面有显著疗效，常在治疗腹泻腹痛的中药复方中使用。目前对扭肚藤质量评价的研究仅限于单一成分的含有量测定、显微和薄层色谱鉴别<sup>[5-10]</sup>，不能很好地反映药材质量。而对其药效物质基础的研究至今尚未报道，有学者采用 UPLCQ-TOF/MS 分析其化学成分<sup>[11]</sup>，但活性成分仍然未知。

课题组在前期的研究工作中筛选出三氯甲烷和乙酸乙酯提取物为扭肚藤的有效部位，并从中分离得到 17 个化合物<sup>[12]</sup>。进一步研究其有效部位止泻作用机制，表明抗炎是止泻的关键。因此，课题组采用体外炎症细胞模型对分离得到的化合物进行抗炎活性的快速筛选，结果表明咖啡酸甲酯和异绿原酸 B 为其抗炎主要成分。本实验建立扭肚藤 UPLC 指纹图谱，并对咖啡酸甲酯和异绿原酸 B 进行含有量测定，以达到控制与疗效相关的活性成分的目的，建立能反映中药药效的质量评价方法。

### 1 仪器与试药

Agilent Infinity 1290 超高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；KQ5200DE 型超声仪（昆山市超声仪器有限公司）；Mettler XS205DU 电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。咖啡酸甲酯对照品（M2519，百灵威科技有限公司）；异绿原酸 B 对照品（Y-069-150624，成都瑞芬思生物科技有限公司）。10 批扭肚藤药材（具体见表 1）由广东省第

二中医院中医药工程技术研究所刘法锦研究员鉴定为正品。乙腈、甲酸为色谱纯（德国 Merck 公司）；实验用水为纯水，其余试剂均为分析纯。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

| 编号  | 批号     | 来源      | 产地 |
|-----|--------|---------|----|
| S1  | 150715 | 广东省药材公司 | 广西 |
| S2  | 160301 | 至信药业    | 广东 |
| S3  | 160301 | 自采      | 广西 |
| S4  | 150901 | 岭南中药厂   | 广西 |
| S5  | 150901 | 广东省药材公司 | 广东 |
| S6  | 150127 | 自采      | 广东 |
| S7  | 150501 | 自采      | 广东 |
| S8  | 161101 | 自采      | 广东 |
| S9  | 161101 | 自采      | 广西 |
| S10 | 161001 | 自采      | 广西 |

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Ecplise XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)；流动相乙腈 (A) - 水 (含 0.1% 甲酸, B)，梯度洗脱（洗脱程序见表 2）；柱温 25 °C；体积流量 0.5 mL/min；检测波长 260 nm；进样量 2 μL。

表 2 梯度洗脱程序

Tab. 2 Gradient elution programs

| 时间/min      | A 乙腈/%  | B 水/%   |
|-------------|---------|---------|
| 0 ~ 8.0     | 5 ~ 8   | 92 ~ 95 |
| 8.0 ~ 12.8  | 8       | 92      |
| 12.8 ~ 15.6 | 8 ~ 20  | 80 ~ 92 |
| 15.6 ~ 23.6 | 20 ~ 33 | 67 ~ 80 |
| 23.6 ~ 42.0 | 33 ~ 44 | 56 ~ 67 |
| 42.0 ~ 42.8 | 44 ~ 63 | 37 ~ 56 |
| 42.8 ~ 46.8 | 63      | 37      |
| 46.8 ~ 50.0 | 63 ~ 80 | 20 ~ 37 |

### 2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 异绿原酸 B 精密称取异绿原酸 B 对照品 7.67 mg，置 100 mL 量瓶中，加入甲醇溶解并稀释

至刻度，摇匀，即得（质量浓度0.076 7 mg/mL）。

2.2.2 咖啡酸甲酯对照品 精密称取咖啡酸甲酯对照品9.60 mg，置50 mL量瓶中，加入甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得（质量浓度0.192 mg/mL）。

2.3 供试品溶液制备 精密称取S1~S10样品粉末1 g，加入甲醇溶液20 mL，称定质量，超声处理1 h，放冷，再称定质量，用甲醇溶液补足减失的质量，0.22 μm微孔滤膜过滤，即得。

2.4 指纹图谱建立

2.4.1 方法学考察试验

2.4.1.1 重复性试验 取“2.3”项下S1供试品溶液6份，在“2.1”项色谱条件下分析，以5号峰咖啡酸甲酯为参照峰计算共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD值，结果均小于3%，表明该方法重复性良好。

2.4.1.2 精密度试验 取“2.3”项下S1供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下连续进样5次，以5号峰咖啡酸甲酯为参照峰，计算共有峰相对保留时间和峰面积的RSD值，结果均小于3%，表明仪器精密度良好。

2.4.1.3 稳定性试验 取“2.3”项下S1供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下分析，于0、2、6、8、12 h进样，以5号峰咖啡酸甲酯为参照峰，计算共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD值，结果均小于3%，表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.4.2 指纹图谱建立及相似度评价 吸取S1~S10供试品溶液及异绿原酸B和咖啡酸甲酯对照品溶液各2 μL，进样后得到10批样品的UHPLC指纹图谱（见图1）。导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004 A版）进行色谱峰分析，得到18个共有峰（见图2）。所得对照指纹图谱通过与对照品比对可知，4号峰为异绿原酸B，5号峰为咖啡酸甲酯（见图3）。选定5号峰为参照峰，计算1~18号共有峰的相对峰面积和相对保留时间，结果见表3、4。10批样品与对照指纹图谱的相似度计算结果见表5。

2.5 含有量测定

2.5.1 方法学考察

2.5.1.1 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.1”、“2.2.2”项下对照品溶液1、2、3、4、5 mL；0.5、1、2、3、4 mL，置于10 mL量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，配制成质量浓度分别为7.67、15.34、23.01、30.68、38.35 μg/mL；9.60、

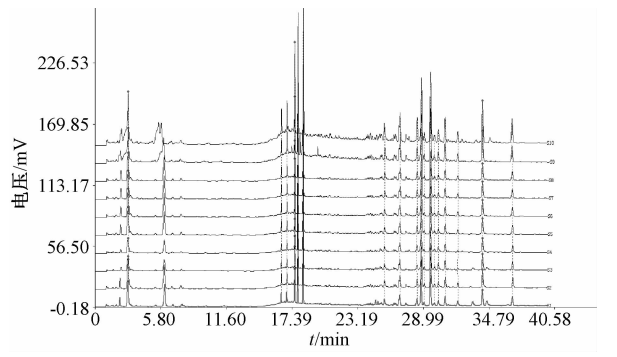


图1 10批样品UPLC指纹图谱

Fig.1 UPLC fingerprints of ten batches of samples

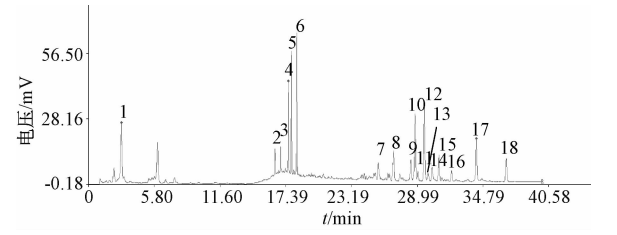
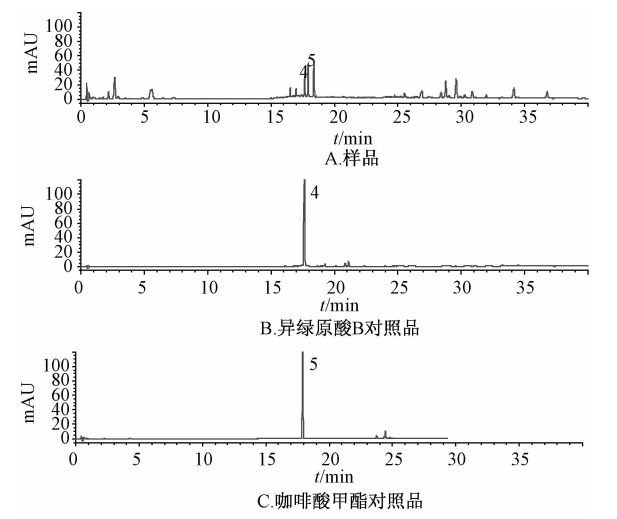


图2 UPLC指纹图谱共有峰

Fig.2 Common peaks of UPLC fingerprints



4. 异绿原酸B 5. 咖啡酸甲酯  
4. isochlorogenic acid B 5. methylcaffeate

图3 各成分HPLC色谱图

Fig.3 HPLC chromatograms of various constituents

19.2、38.4、57.6、76.8 μg/mL的对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样2 μL，测定峰面积，以质量浓度为横坐标（X），峰面积积分为纵坐标（Y），绘制标准曲线，得回归方程分别为异绿原酸B  $Y = 3.833\ 795\ 27X - 3.658\ 760\ 1$  ( $r = 0.999\ 35$ )，在7.67~38.35 μg/mL范围内线性关系良好；咖啡酸甲酯  $Y = 5.244\ 287\ 97X + 0.879\ 019\ 84$  ( $r = 0.999\ 65$ )，在9.60~96.0 μg/mL范围内线性关系良好。

表 3 10 批样品共有峰相对保留时间

Tab. 3 Relative retention time of common peaks of ten batches of samples

| 峰号 | 批次      |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
|----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|    | S1      | S2      | S3      | S4      | S5      | S6      | S7      | S8      | S9      | S10     |
| 1  | 0.172 2 | 0.168 1 | 0.172 2 | 0.160 8 | 0.162 2 | 0.172 0 | 0.170 5 | 0.163 7 | 0.164 2 | 0.165 5 |
| 2  | 0.918 3 | 0.920 0 | 0.917 9 | 0.918 7 | 0.919 0 | 0.919 2 | 0.918 9 | 0.921 6 | 0.919 6 | 0.937 6 |
| 3  | 0.945 8 | 0.946 7 | 0.946 0 | 0.946 1 | 0.946 5 | 0.946 9 | 0.946 6 | 0.947 3 | 0.947 2 | 0.947 5 |
| 4  | 0.985 0 | 0.985 2 | 0.984 9 | 0.985 1 | 0.985 2 | 0.985 2 | 0.985 1 | 0.985 1 | 0.985 4 | 0.985 3 |
| 5  | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 |
| 6  | 1.026 6 | 1.026 2 | 1.026 2 | 1.026 3 | 1.026 3 | 1.026 2 | 1.026 3 | 1.025 9 | 1.021 7 | 1.026 4 |
| 7  | 1.427 1 | 1.430 8 | 1.427 0 | 1.429 0 | 1.428 2 | 1.427 2 | 1.427 2 | 1.425 3 | 1.425 8 | 1.425 8 |
| 8  | 1.503 9 | 1.508 3 | 1.503 3 | 1.506 0 | 1.505 1 | 1.503 4 | 1.503 0 | 1.496 3 | 1.500 3 | 1.504 4 |
| 9  | 1.588 6 | 1.594 2 | 1.588 4 | 1.590 8 | 1.590 0 | 1.588 4 | 1.587 1 | 1.586 4 | 1.583 8 | 1.586 7 |
| 10 | 1.609 3 | 1.615 1 | 1.609 5 | 1.611 5 | 1.610 6 | 1.609 0 | 1.607 5 | 1.607 0 | 1.603 8 | 1.603 9 |
| 11 | 1.623 7 | 1.629 1 | 1.623 7 | 1.625 6 | 1.624 8 | 1.623 2 | 1.621 4 | 1.621 0 | 1.617 5 | 1.618 8 |
| 12 | 1.655 4 | 1.661 4 | 1.655 4 | 1.657 8 | 1.656 8 | 1.654 7 | 1.653 0 | 1.652 4 | 1.648 8 | 1.650 4 |
| 13 | 1.674 0 | 1.679 7 | 1.674 5 | 1.676 8 | 1.675 0 | 1.672 9 | 1.671 1 | 1.670 2 | 1.666 7 | 1.668 9 |
| 14 | 1.694 0 | 1.699 6 | 1.693 7 | 1.696 7 | 1.695 0 | 1.693 0 | 1.6911  | 1.6899  | 1.686 8 | 1.683 7 |
| 15 | 1.728 2 | 1.734 5 | 1.727 7 | 1.731 1 | 1.729 4 | 1.727 3 | 1.7245  | 1.7233  | 1.720 3 | 1.722 1 |
| 16 | 1.790 5 | 1.796 7 | 1.789 9 | 1.793 3 | 1.791 6 | 1.789 2 | 1.7866  | 1.7849  | 1.782 2 | 1.783 3 |
| 17 | 1.912 5 | 1.919 7 | 1.912 6 | 1.916 3 | 1.913 8 | 1.911 3 | 1.9084  | 1.9065  | 1.903 6 | 1.906 7 |
| 18 | 2.059 0 | 2.067 9 | 2.059 5 | 2.064 4 | 2.061 4 | 2.058 7 | 2.0561  | 2.0529  | 2.050 0 | 2.051 8 |

表 4 10 批样品共有峰相对峰面积

Tab. 4 Relative peak areas of common peaks of ten batches of samples

| 峰号 | 批次      |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
|----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|    | S1      | S2      | S3      | S4      | S5      | S6      | S7      | S8      | S9      | S10     |
| 1  | 1.608 5 | 1.698 0 | 0.866 7 | 0.924 2 | 1.538 6 | 1.542 9 | 1.527 5 | 1.527 5 | 1.622 9 | 1.347 5 |
| 2  | 0.210 2 | 0.313 3 | 0.224 0 | 0.204 2 | 0.318 8 | 0.311 6 | 0.406 6 | 0.406 6 | 0.283 4 | 0.260 7 |
| 3  | 0.233 5 | 0.274 4 | 0.330 6 | 0.205 3 | 0.294 1 | 0.258 9 | 0.260 6 | 0.260 6 | 0.296 9 | 0.250 4 |
| 4  | 0.742 4 | 0.847 5 | 0.677 6 | 0.685 6 | 0.755 0 | 0.753 1 | 0.754 0 | 0.754 0 | 0.799 0 | 0.722 9 |
| 5  | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 | 1.000 0 |
| 6  | 1.168 7 | 1.198 6 | 1.347 3 | 1.290 0 | 1.209 6 | 1.209 4 | 1.201 5 | 1.201 5 | 1.154 9 | 1.212 0 |
| 7  | 0.327 1 | 0.325 7 | 0.232 3 | 0.224 4 | 0.326 6 | 0.333 0 | 0.326 3 | 0.326 3 | 0.347 9 | 0.251 9 |
| 8  | 0.436 2 | 0.432 8 | 0.415 8 | 0.548 8 | 0.439 9 | 0.434 9 | 0.438 3 | 0.438 3 | 0.451 3 | 0.400 4 |
| 9  | 0.295 6 | 0.367 8 | 0.225 3 | 0.329 6 | 0.373 4 | 0.372 9 | 0.370 3 | 0.370 3 | 0.359 0 | 0.417 5 |
| 10 | 1.134 4 | 1.160 5 | 1.109 4 | 1.098 7 | 1.167 5 | 1.168 0 | 1.172 6 | 1.172 6 | 1.149 7 | 1.048 0 |
| 11 | 0.161 0 | 0.168 8 | 0.146 4 | 0.140 2 | 0.159 9 | 0.160 6 | 0.162 6 | 0.162 6 | 0.162 2 | 0.153 3 |
| 12 | 1.288 1 | 1.285 0 | 1.278 3 | 1.264 1 | 1.317 7 | 1.319 8 | 1.308 8 | 1.308 8 | 1.312 8 | 1.190 2 |
| 13 | 0.170 2 | 0.169 2 | 0.183 0 | 0.180 3 | 0.174 7 | 0.176 3 | 0.174 8 | 0.174 8 | 0.173 8 | 0.166 5 |
| 14 | 0.277 9 | 0.294 6 | 0.369 8 | 0.352 0 | 0.276 1 | 0.274 7 | 0.285 0 | 0.285 0 | 0.289 7 | 0.256 6 |
| 15 | 0.429 8 | 0.567 7 | 0.533 3 | 0.482 7 | 0.467 9 | 0.468 3 | 0.481 4 | 0.481 4 | 0.434 8 | 0.492 5 |
| 16 | 0.279 3 | 0.198 8 | 0.131 7 | 0.074 7 | 0.209 8 | 0.207 4 | 0.208 5 | 0.208 5 | 0.193 7 | 0.164 8 |
| 17 | 0.748 6 | 0.896 0 | 0.750 7 | 0.824 2 | 0.750 8 | 0.758 0 | 0.877 0 | 0.877 0 | 0.859 1 | 0.738 9 |
| 18 | 0.456 3 | 0.455 2 | 0.395 1 | 0.392 8 | 0.472 2 | 0.473 2 | 0.482 6 | 0.482 6 | 0.448 8 | 0.440 4 |

表 5 10 批样品相似度

Tab. 5 Similarities of ten batches of samples

| 编号  | S1    | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S7    | S8    | S9    | S10   |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 相似度 | 0.978 | 0.987 | 0.962 | 0.969 | 0.999 | 0.989 | 0.999 | 0.989 | 0.972 | 0.872 |

2.5.1.2 精密度试验 取“2.3”项下 S1 供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次，测得异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯峰面积积分值的 RSD 分别为 0.42%、0.14%，表明仪器精密度良好。

2.5.1.3 重复性试验 按“2.3”项下方法平行制备 6 份 S7 供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下分析，测得异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯的平均含量分别为 0.609 6 mg/g、0.569 9 mg/g，RSD 分

别为 0.43%、0.47%，表明该方法重复性良好。

2.5.1.4 稳定性试验 取“2.3”项下 S7 供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下分析，于 0、2、6、8、12 h 进样 2 μL，测得异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯峰面积积分值的 RSD 分别为 0.55%、0.72%，表明在 12 h 内稳定性良好。

2.5.1.5 加样回收率试验 取已知含有量的样品(S1)，分别精密加入一定量的异绿原酸 B 和咖啡酸甲酯对照品，按“2.3”项下方法制备样品，在“2.1”项色谱条件下进样，平行做 9 组，计算加样回收率及 RSD 值，两者平均回收率分别为 98.61%、99.09%，RSD 分别为 0.84%、1.25%，结果见表 6、7。

2.5.1.6 样品含有量测定 吸取“2.2”、“2.3”项下对照品溶液和 S1 ~ S10 供试品溶液各 2 μL，在“2.1”项色谱条件下进样，按外标法计算含有量，结果见表 8。

表 6 异绿原酸 B 加样回收试验结果 (n=9)  
Tab. 6 Results of recovery tests for isochlorogenic acid B (n=9)

| 称样量/<br>g | 原有量/<br>mg | 加入量/<br>mg | 测得量/<br>mg | 回收率/<br>% | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 0.500 3   | 0.305 0    | 0.158 0    | 0.459 6    | 97.85     | 98.61       | 0.84      |
| 0.501 1   | 0.305 5    | 0.158 0    | 0.460 2    | 97.91     |             |           |
| 0.500 9   | 0.305 3    | 0.158 0    | 0.463 0    | 99.81     |             |           |
| 0.500 4   | 0.305 0    | 0.303 5    | 0.604 6    | 98.71     |             |           |
| 0.501 8   | 0.305 9    | 0.303 5    | 0.604 2    | 98.29     |             |           |
| 0.500 9   | 0.305 3    | 0.303 5    | 0.607 3    | 99.51     |             |           |
| 0.501 0   | 0.305 4    | 0.455 5    | 0.752 5    | 98.16     |             |           |
| 0.500 4   | 0.305 0    | 0.455 5    | 0.758 8    | 99.63     |             |           |
| 0.501 2   | 0.305 5    | 0.455 5    | 0.750 3    | 97.65     |             |           |

表 7 咖啡酸甲酯加样回收率试验结果 (n=9)  
Tab. 7 Results of recovery tests for methylcaffeate (n=9)

| 称样量/<br>g | 原有量/<br>mg | 加入量/<br>mg | 测得量/<br>mg | 回收率/<br>% | 平均回<br>收率/% | RSD/<br>% |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 0.500 3   | 0.285 1    | 0.152 5    | 0.437 0    | 99.61     | 99.09       | 1.25      |
| 0.501 1   | 0.285 6    | 0.152 5    | 0.436 4    | 98.89     |             |           |
| 0.500 9   | 0.285 5    | 0.152 5    | 0.434 2    | 97.51     |             |           |
| 0.500 4   | 0.285 2    | 0.288 5    | 0.569 9    | 98.68     |             |           |
| 0.501 8   | 0.286 0    | 0.288 5    | 0.568 9    | 98.06     |             |           |
| 0.500 9   | 0.285 5    | 0.288 5    | 0.567 4    | 97.71     |             |           |
| 0.501 0   | 0.285 5    | 0.419 5    | 0.706 3    | 100.31    |             |           |
| 0.500 4   | 0.285 2    | 0.419 5    | 0.709 6    | 101.17    |             |           |
| 0.501 2   | 0.285 6    | 0.419 5    | 0.704 5    | 99.86     |             |           |

### 3 讨论

3.1 供试品溶液的处理方法 本实验在对扭肚藤的主要药效学和化学成分研究时，是采用甲醇作为提取溶剂，且药效学研究表明扭肚藤的甲醇提取物

表 8 各成分含有量测定结果  
Tab. 8 Results of content determination of various constituents

| 样品<br>编号 | 取样量/<br>g | 异绿原酸 B/<br>(mg·g <sup>-1</sup> ) | 咖啡酸甲酯/<br>(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|----------|-----------|----------------------------------|---------------------------------|
| S1       | 1.001 5   | 0.607 5                          | 0.565 1                         |
| S2       | 1.001 8   | 0.653 5                          | 0.580 7                         |
| S3       | 1.000 1   | 0.503 0                          | 0.518 7                         |
| S4       | 1.001 2   | 0.518 7                          | 0.529 4                         |
| S5       | 1.001 2   | 0.513 8                          | 0.532 2                         |
| S6       | 1.000 3   | 0.507 4                          | 0.524 5                         |
| S7       | 1.000 4   | 0.496 3                          | 0.501 7                         |
| S8       | 1.009 9   | 0.533 0                          | 0.502 9                         |
| S9       | 1.005 1   | 0.581 3                          | 0.518 6                         |
| S10      | 1.009 7   | 0.685 1                          | 0.596 5                         |

具有较好的活性，有效成分可能存在于甲醇提取物中，故本研究采用了甲醇作为供试品的提取溶剂。在提取方法的选择上，分别对超声提取和加热回流提取进行了比较，结果两者对色谱峰的影响无显著性差异，故选择较为简便的超声处理作为供试品的提取方法。

3.2 色谱条件选择 本实验对不同的流动相系统、色谱柱、柱温和流速进行了考察。通过对扭肚藤化学成分的研究可知，其酚酸类成分较多，故在酸性条件下有利于酚酸类成分的洗脱并保持良好的峰形，分离效果较好。

采用常规的 HPLC 法分析需要 120 min 才能使样品得到较好的分离，而 UPLC 只需要 40 min，缩短了 3 倍，极大地节省了时间。在相同的粒径和内径下，柱长越短分析时间越短，但中药的成分较为复杂，色谱柱的长度有可能影响色谱峰的分离，因此本实验在对色谱柱的考察中发现，50 mm 长度的 UPLC 并不适合，故选用 2.1 mm×100 mm 规格。在流速的选择方面，流速增加柱压随之增加，因此本研究在维持合适的柱压下选择流速，0.5 mL/min 的流速对色谱峰分离较好。对不同的柱温考察结果发现，25℃时分离效果较好，故在常温下对样品进行分析。由于 UPLC 采用了更小的内径和更细的粒径，故载样量也随之降低，为了保证分离度和分离效率，样品的浓度和进样量不宜过高。

3.3 指纹图谱相似度和含有量分析 从表 5 相似度结果可以可得，10 批样品的相似度均达到 0.85 以上，表明产自广东和广西的扭肚藤药材相似度较高，质量较稳定。其中产地为广东的 S2、S5、S6、S7、S8 相似度最高，其次是产地为广西的 S1、S3、S4、S9、S10 的相似度相对较低，可能与种植环境、采收期等各方面因素有关。

参考文献:

[ 1 ] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.

[ 2 ] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988.

[ 3 ] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准 (第一册) [S]. 广州: 广东科技出版社, 2004.

[ 4 ] 中国药科大学. 中药辞海 (第二卷) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.

[ 5 ] 孔令锋, 李书渊. 扭肚藤的生药学研究[J]. 广东药学院学报, 2008, 24(5): 449-451.

[ 6 ] 谈远锋, 黄茂春. 扭肚藤的生药鉴定研究[J]. 中国医药指南, 2008, 6(23): 125-126.

[ 7 ] 吴 忠, 李锐增, 罗 健, 等. 腹可安片中扭肚藤、救必应、石榴皮的薄层层析鉴别[J]. 广东医药学院学报, 1994, 10(2): 92-93.

[ 8 ] 李镜友, 陈 军, 张小兵, 等. 腹可安片质量标准的研究[J]. 中医药导报, 2007, 13(7): 95-97.

[ 9 ] 王秀芹, 侯惠婵, 林 彤. 腹可安片质量标准改进研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6): 663-665.

[10] 彭 维, 王小锐, 王永刚, 等. UPLC 法测定扭肚藤药材中东莨菪素的含量[J]. 中药材, 2007, 30(5): 562-563.

[11] 王风云, 韩 亮, 宋雨鸿. UPLC/Q-TOF-MS 技术快速鉴定瑶药别旁茶提取物的化学成分[J]. 广东药学院学报, 2016, 32(1): 55-60.

[12] 胥爱丽, 陈 雪, 江洁怡, 等. 扭肚藤的化学成分研究[J]. 中药材, 2016, 39(8): 1779-1781.

## HPLC 法同时测定 17 种石杉亚科植物石杉碱甲、乙

赵 惠<sup>1</sup>, 覃兰芳<sup>2</sup>, 黄云峰<sup>2,3\*</sup>

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530200; 2. 广西壮族自治区中医药研究院, 广西南宁 530022; 3. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

**摘要:** **目的** 建立 HPLC 法同时测定 17 种 (含 2 待发表新种) 石杉亚科植物中石杉碱甲 (huperzine A) 和石杉碱乙 (huperzine B) 的含有量。 **方法** 石杉碱甲、乙酒石酸提取液的分析采用 Wondasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 以甲醇-醋酸铵溶液为流动相, 等度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 310 nm; 柱温室温。外标法定量。 **结果** 石杉碱甲、乙分别在 0.002 0~0.30 μg、0.001 8~0.27 μg 范围内线性关系良好 ( $r=0.999\ 9$ ), 平均加样回收率、RSD 分别为 103.86% (1.85%)、101.3% (1.30%)。17 种石杉亚科植物中都含有石杉碱甲、乙, 各物种之间含有量有显著性差异; 喜马拉雅马尾杉中石杉碱甲含有量最高, 达 0.22%, 柳杉叶马尾杉、有柄马尾杉和马尾杉含量也较高; 马尾杉中石杉碱乙含有量最高。 **结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于石杉亚科植物中石杉碱甲和石杉碱乙的质量控制。

**关键词:** 石杉亚科; 石杉碱甲; 石杉碱乙; HPLC

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)03-0637-06

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.027

## Simultaneous determination of huperzine A and huperzine B in Seventeen species from Huperzioideae subfamily by HPLC

ZHAO Hui<sup>1</sup>, QIN Lan-fang<sup>2</sup>, HUANG Yun-feng<sup>2,3\*</sup>

(1. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of huperzine A and

**收稿日期:** 2017-08-25  
**基金项目:** 广西科学研究与技术开发计划项目 (14123006-37); 南宁市青秀区科学研究与技术开发计划项目 (2013S13)  
**作者简介:** 赵 惠 (1994—), 女, 硕士生, 从事药用植物资源开发与利用研究。Tel: 15677185797, E-mail: xs1994zhaohui@126.com  
**\* 通信作者:** 黄云峰 (1980—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药资源调查与评价研究。Tel: 18978933791, E-mail: huangyunfeng2000@126.com