

白英不同生长期不同药用部位 绿原酸与咖啡酸及芦丁含量测定

舒翔¹, 陈军¹, 林世和², 谢岱¹, 余南才²

(武汉市第一医院 1. 药剂科; 2. 中心实验室, 430022)

摘要 目的 探讨白英不同生长期不同药用部位绿原酸、咖啡酸及芦丁含量, 为确定其最合适的采收季节提供理论依据。方法 于5, 6, 7, 8, 9, 10, 11月采集白英根、茎、叶、果样品, 采用高效液相色谱法测定。色谱条件: Angilent Zorbax ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱前加保护柱; 流动相为乙腈-1% 醋酸溶液, 梯度洗脱; 流速: 0.6 mL·min⁻¹; 柱温: 25℃; 检测波长 327 nm。结果 白英根、茎、叶、果实等不同部位绿原酸含量均较高, 含量符合以下规律: 果实<下部茎<根<上部茎<叶; 不同生长周期根、茎中绿原酸: 根部位8月达到最高值(2.583 mg·g⁻¹), 下部茎9月达到最大(2.762 mg·g⁻¹), 上部茎中8月达到最大(1.788 mg·g⁻¹); 叶中绿原酸、咖啡酸、芦丁含量均较高, 绿原酸在11月叶中达到峰值(8.169 mg·g⁻¹), 咖啡酸在8月叶中达到峰值(0.397 mg·g⁻¹), 芦丁在11月叶中达到峰值(3.777 mg·g⁻¹)。结论 白英不同药用部位不同生长期绿原酸、咖啡酸及芦丁含量随着生长发育进程而发生变化, 综合考虑, 以8~9月枝叶茂盛时采收, 有效成分含量最高。

关键词 白英; 绿原酸; 咖啡酸; 芦丁; 药用部位; 生长期; 含量测定

中图分类号 R286; R927.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)08-1062-03

Determination of Chlorogenic Acid, Caffeic Acid and Rutin in Different Medicinal Parts and Growth Stages of *Solanum lyratum* Thunb.

SHU Xiang¹, CHEN Jun¹, LIN Shi-he², XIE Dai¹, YU Nan-cai² (1. Department of Pharmacy; 2. Central Laboratory, First Hospital of Wuhan, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT Objective To study contents of chlorogenic acid, caffeic acid and rutin in different medicinal parts and growth stage of *Solanum lyratum* Thunb. and to provide a theoretical basis for confirming an optimal recovery season. **Methods**

The root, stem, leaf and fruit samples were collected from May to November. High performance liquid chromatography (HPLC) method was used. The Angilent Zorbax ODS C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used. The detection wavelength was 327 nm. The mobile phase consisted of acetonitrile-1% acetum, and the flow rate was 0.6 mL·min⁻¹. The column temperature was set at 25℃. **Results** Chlorogenic acid in different medicinal parts of *Solanum lyratum* Thunb. was comparatively abundant, the distribution of chlorogenic acid content met the following rules: fruit<upper part stem<root<under part stem<leaf. The maximum values of chlorogenic acid at different medicinal parts were as follows: 2.583 mg·g⁻¹ in the root at August, 2.762 mg·g⁻¹ in the under part stem at August, 1.788 mg·g⁻¹ in the upper part stem at september. The content of chlorogenic acid, caffeic acid and rutin in the leaf was comparatively abundant. The maximum value of caffeic acid in the leaf was 0.397 mg·g⁻¹ at August. The maximum values of rutin and chlorogenic acid were 3.777 mg·g⁻¹ and 8.169 mg·g⁻¹ at November, respectively. **Conclusion** The contents of chlorogenic acid, caffeic acid and rutin change as *Solanum lyratum* Thunb. grows and develops. The active constituent content is most abundant in the leafiness *Solanum lyratum* Thunb. harvested at August or September.

KEY WORDS *Solanum lyratum* Thunb.; Chlorogenic acid; Caffeic acid; Rutin; Medicinal parts; Growth stage; Determination

《中药大辞典》载白英“一般于5~6月或9~11

月间割取全草”^[1], 但并无现代实验数据支持这一结论。本实验建立同时测定白英叶中绿原酸、咖啡酸及芦丁3种成分含量的方法^[2], 并探讨白英各药用部位不同生长期3种成分含量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Varian PS 240 高效液相色谱仪; Prostar 335 UV 检测器, Model 240 四元泵, Model 500 柱温箱, Varian PS 240 工作站(美国瓦里安公司); 十万分之一电子天平(德国 Sartorius)。

收稿日期 2012-02-13 修回日期 2012-02-28

基金项目 * 武汉市卫生局临床医学科研基金 (WZ10A01)

作者简介 舒翔(1978-), 男, 湖北英山人, 药师, 学士, 主要从事中药材及中药制剂的质量标准研究。E-mail: flyingshu@tom.com。

通讯作者 林世和, 男, 湖北罗田人, 副主任药师, 硕士, 主要从事中药材及中药制剂的质量标准研究。E-mail: linshihe1974@126.com。

1.2 试药 绿原酸对照品(批号:110753-200413,供含量测定用)、咖啡酸对照品(批号:110885-200102,供含量测定用)、芦丁对照品(批号:100080-200306)均购于中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。白英根、茎、叶、果实样品均自采于湖北省罗田县,经武汉市第一医院中心实验室余南才主任药师鉴定为茄科茄属植物 *Solanum lyratum* Thunb. 的根、茎、叶、果等。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性实验 色谱柱:Agilent Zorbax C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),柱前加保护柱。乙腈为流动相 A,1% 醋酸为流动相 B,按表 1 梯度洗脱,流速 0.6 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 327 nm,进样 20 μL。理论板数按绿原酸峰、咖啡酸、芦丁计算均不低于 2 000。绿原酸、咖啡酸、芦丁与其他组分峰分离度均>1.5。

表 1 流动相比例

Tab.1 Gradient elution ratio of mobile phase

时间/ min	流动相 A %	流动相 B %
0~12	12→20	88→80
12~17	20	80
17~29	20→25	80→75
29~37	25→45	75→55
37~45	45→12	55→88

2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品 5.40 mg,置 25 mL 量瓶,用适量甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.216 g·L⁻¹ 绿原酸对照溶液;取咖啡酸对照品 5.38 mg,置 25 mL 量瓶,用适量甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.215 2 g·L⁻¹ 咖啡酸对照溶液;取芦丁对照品 10.91 mg,置 25 mL 量瓶,用适量甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.436 4 g·L⁻¹ 芦丁对照溶液。分别取绿原酸、咖啡酸对照品溶液各 5 mL,芦丁对照品溶液 6 mL,置 25 mL 量瓶,用适量甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 3 种对照品混合溶液^[3]。

2.3 供试溶液的制备 取脱脂后的白英叶干燥粉末(过 30 目筛)约 2 g,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶,加入 90% 乙醇 40 mL,80 ℃ 水浴回流提取 2 次,每次 1 h,合并提取液,减压蒸干。残渣用 90% 甲醇溶解,转移至 50 mL 量瓶,并用 90% 甲醇定容,摇匀后用微孔滤膜过滤,即得^[4]。

2.4 线性关系考察 分别精密量取混合对照溶液 0.5,1.0,2.0,4.0,6.0,8.0 mL,置 10 mL 量瓶,用甲醇

稀释至刻度,配制不同浓度对照品溶液,分别取对照品溶液 20 μL,注入高效液相色谱仪,依法测定,记录色谱图。以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。结果表明,绿原酸在 2.16~43.20 μg·mL⁻¹ 范围内、咖啡酸在 2.152~43.04 μg·mL⁻¹ 范围内,芦丁在 5.237~104.74 μg·mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系。回归方程为,绿原酸:Y=84.697 0X-21.032 7,r=0.999 5;咖啡酸:Y=149.648 1X-44.289 5,r=0.999 8;芦丁:Y=33.278 0X+9.996 9,r=0.999 2。

2.5 精密度实验 精密吸取混合对照品溶液 6 mL,至 10 mL 量瓶,加 90% 乙醇至刻度,摇匀,吸取 20 μL,注入高效液相色谱仪,重复进样 6 次,记录色谱峰面积。计算得绿原酸、咖啡酸、芦丁峰面积 RSD 分别为 2.07%、1.35%、1.24%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性实验 取“2.3”项供试品溶液,室温放置,分别于 0,4,8,12,16,24 h,参照“2.1”项色谱条件进样分析,每次进样 20 μL,记录色谱峰面积。计算得绿原酸、咖啡酸、芦丁峰面积 RSD 分别为 1.51%、1.89%、1.72%,表明供试品溶液在室温 24 h 内稳定。

2.7 重复性实验 取白英 6 月叶,同批干燥粉末(过 30 目筛)6 份,按“2.3”项方法平行制备 6 份供试溶液。精密吸取 20 μL,进样分析,记录绿原酸、咖啡酸、芦丁色谱峰面积,外标法计算含量。绿原酸、咖啡酸、芦丁平均含量分别为 0.546 5,0.140 0,0.405 2 mg·g⁻¹,RSD 分别为 1.60%、1.74%、1.87%。表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率实验 称取已知含量的白英 6 月叶干燥粉末(过 30 目筛)约 1 g(绿原酸、咖啡酸、芦丁含量分别为 0.546 5,0.140 0,0.405 2 mg·g⁻¹)5 份,精密称定,分别精密加入 0.216 g·L⁻¹ 绿原酸对照溶液 2.50 mL,0.215 2 g·L⁻¹ 咖啡酸对照溶液 0.65 mL,0.436 4 g·L⁻¹ 芦丁对照溶液 0.95 mL,按“2.3”项方法制备供试溶液并测定含量,分别计算样品加样回收率,结果见表 2~4。绿原酸平均加样回收率 99.05%,RSD=1.29%;咖啡酸平均加样回收率 100.04%,RSD=1.65%;芦丁平均加样回收率 99.60%,RSD=1.75%。

2.9 供试品含量测定 依据预测含量的高低,取脱脂后的白英根、茎、叶、果干燥粉末(过 30 目筛)0.5~2.0 g,精密称定。按“2.3”项方法操作,供试溶液定容至 50 mL,在“2.1”项色谱条件进样分析,计算含量,结果见表 5,6。

3 讨论

从含量测定结果得知,白英根、茎、叶、果中均含有

绿原酸、咖啡酸等有机酸,还含有芦丁等黄酮类成分。不同药用部位绿原酸含量均较高,根、上部茎中绿原酸8月份达最高,下部茎9月份达最大,其后含量降低。果实10月份达最高,11月含量降低,与《中药大辞典》^[7]记载的苦茄生物碱含量类似,在叶中绿原酸的含量是越来越高,11月达到最大;只有叶中咖啡酸、芦丁的含量较高,而根、茎、果中的含量甚微,几乎可忽略不计,芦丁也是11月叶中达到峰值,咖啡酸在8月叶中达到峰值,其后也降低。

表2 绿原酸加样回收率实验(n=5)

Tab.2 The recovery results of chlorogenic acid(n=5)

取样量/ g	样品含量	加入量 mg	测得量	回收率/ %
1.029 0	0.562 3	0.540 0	1.094 5	98.56
1.000 0	0.546 5	0.540 0	1.091 5	100.93
1.043 0	0.570 0	0.540 0	1.101 8	98.48
0.999 3	0.546 1	0.540 0	1.084 3	99.67
1.023 2	0.559 1	0.540 0	1.086 3	97.63

表3 咖啡酸加样回收率实验(n=5)

Tab.3 The recovery results of caffeic acid(n=5)

取样量/ g	样品含量	加入量 mg	测得量	回收率/ %
1.029 0	0.144 0	0.140 0	0.281 8	98.43
1.000 0	0.140 0	0.140 0	0.282 9	102.07
1.043 0	0.146 0	0.140 0	0.284 2	98.71
0.999 3	0.139 9	0.140 0	0.282 0	101.50
1.023 2	0.143 2	0.140 0	0.282 5	99.50

表4 芦丁加样回收率实验(n=5)

Tab.4 The recovery results of rutin(n=5)

取样量/ g	样品含量	加入量 mg	测得量	回收率/ %
1.029 0	0.416 9	0.414 6	0.829 2	99.45
1.000 0	0.405 2	0.414 6	0.820 8	100.24
1.043 0	0.422 6	0.414 6	0.831 1	98.53
0.999 3	0.404 9	0.414 6	0.809 6	97.61
1.023 2	0.414 6	0.414 6	0.838 1	102.15

表5 白英根、茎、叶、果不同月份绿原酸含量比较

Tab.5 The comparison of content of chlorogenic acid in roots, stems and leaves of *Solanum lyratum* Thunb

部位	6月	7月	8月	9月	10月	11月	平均
根	1.149	1.785	2.583	1.231	1.066	1.300	1.519
下部茎	0.438	1.781	2.533	2.762	1.095	1.535	1.691
上部茎	0.368	1.660	1.788	1.074	0.909	1.128	1.155
叶	0.595	3.151	4.739	4.975	5.556	8.169	4.531
果	0.714	0.880	0.590	0.728

表6 不同时间白英叶中绿原酸、咖啡酸、芦丁含量变化

Tab.6 The change of content of chlorogenic acid, caffeic acid, and rutin in the leaves of *Solanum lyratum* Thunb

成分	6月	7月	8月	9月	10月	11月	平均
绿原酸	0.595	3.151	4.739	4.975	5.556	8.169	4.531
咖啡酸	0.140	0.273	0.397	0.224	0.077	0.035	0.191
芦丁	0.405	0.978	1.284	1.415	1.526	3.777	1.564

白英为多年生蔓性草本植物,绝大部分药用是茎、根,叶所占比重较低,果的比重更低,结合环保及可持续发展观点,以8~9月枝叶茂盛时割取地上茎、枝叶质量最好。

参考文献

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:700.
 [2] 林世和,易艳东,肖宏,等. HPLC法同时测定白英叶中绿

原酸、咖啡酸及芦丁的含量[J]. 中国药师,2011,14(1): 43-45.

[3] 齐伟,孙立新,赵海晓,等. RP-HPLC法同时测定白英中绿原酸及咖啡酸的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(6):451-455.
 [4] 甄会贤,刘文娟,程候莲,等. 白英药材的 HPLC 指纹图谱[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(4):285-290.

DOI 10.3870/yydb.2012.08.032