

广西质量协会团体标准

《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》

(征求意见稿)

编制说明

广西壮族自治区中医药研究院

2025. 04

一、项目来源

根据《广西质量协会关于发布〈鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法〉等 5 项团体标准制定计划的预通知》（桂质协字〔2025〕19 号）文件精神，由广西壮族自治区中医药研究院提出，金秀瑶族自治县大健康产业发展中心、金秀瑶族自治县瑶医药产业技术研究院、金秀瑶族自治县瑶医医院共同起草的团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》（项目编号：2024-0203）。

二、项目背景及目的意义

鸡血藤为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的干燥藤茎，主要分布于云南、广西等南方地区。鸡血藤具有活血补血、调经止痛、舒筋活络的功效，用于月经不调、风湿痹痛、血虚萎黄等病证。研究表明鸡血藤成分复杂，主要含有黄酮类、苯丙素类、酚酸类等成分，具有调节血液系统、抗氧化、抗肿瘤及抗病毒等作用。

鸡血藤作为养血通络之良药，《中华人民共和国药典》1977 年版首次收载，此后历版《中国药典》均沿用收载，且基原相同。此外，鸡血藤还收载于多个地方标准，如《广西壮族自治区壮药质量标准》（第二卷）和《香港中药材标准》第五期等。《中华人民共和国药典》2020 年版载鸡血藤药材质量标准中仅有性状、鉴别、水分和灰分检查、浸出物等检测项，无含量测定项。因此，急需建立鸡血藤有效成分的含量测定方法，为鸡血藤药材质量控制提供依据，保障其临床用药的安全性、稳定性、有效性，促进药材资源的深度开发与应用。

三、项目编制过程

（一）成立标准编制工作组

团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》项目任务下达后，广西壮族自治区中医药研究院成立了标准编制工作组，制定了标准编写方案，明确任务职责，确定工作技术路线，开展标准研制工作，具体标准编制工作广西壮族自治区中医药研究院提出，金秀瑶族自治县大健康产业发展中心、金秀瑶族自治县瑶医药产业技术研究院、金秀瑶族自治县瑶医医院等相关人员配合。

标准主要起草人员

起草人员	姓名	职务/职称	现从事专业	所在单位
项目负责人	赖克道	研究员	中医学	广西壮族自治区中医药研究院
主要参加人员	胡仁传	副研究员	民族植物学	广西壮族自治区中医药研究院
	张颖	副主任药师	中药化学	广西壮族自治区中医药研究院
	袁健童	助理研究员	药物分析	广西壮族自治区中医药研究院
	黄云峰	主任药师	中药资源学	广西壮族自治区中医药研究院
	梁祖兴	主任	瑶医药大健康产业	金秀瑶族自治县大健康产业发展中心
	杨曼生	副院长	瑶医药产业技术研究	金秀瑶族自治县瑶医药产业技术研究院
	梁琼平	院长	瑶医药临床	金秀瑶族自治县瑶医医院
	柴玲	研究员	中药学	广西壮族自治区中医药研究院
	冯军	副主任药师	药物分析	广西壮族自治区中医药研究院
	李星宇	副主任药师	药理学	广西壮族自治区中医药研究院
	罗秋香	副院长	中医学/瑶医药临床	金秀瑶族自治县瑶医医院
	屈信成	副主任药师	中药鉴定	广西壮族自治区中医药研究院
	赵梓颐	研究实习员	分子鉴定	广西壮族自治区中医药研究院
	王倩云	研究实习员	中药鉴定	广西壮族自治区中医药研究院
	黄涌波	副主任	瑶医药大健康产业	金秀瑶族自治县大健康产业发展中心
	谢晓婷	品牌建设股股长	瑶医药大健康产业	金秀瑶族自治县大健康产业发展中心
	霍娟娟	产业规划股股长	瑶医药大健康产业	金秀瑶族自治县大健康产业发展中心
	覃飞	办公室副主任	瑶医药产业技术研究	金秀瑶族自治县瑶医药产业技术研究院
	余凤琴	二级主任科员	瑶医药产业技术研究	金秀瑶族自治县瑶医药产业技术研究院
	覃钰凌	中药士	中药学	金秀瑶族自治县瑶医医院
	韦壹灵	科研部干事	中药学	金秀瑶族自治县瑶医医院

（二）收集整理文献资料

标准编制工作组收集了国内外有关鸡血藤质量标准的相关文献资料。主要包括：

《中国药典》（2020年版）

《广西壮族自治区瑶药材质量标准》（第一卷） 鸡血藤 九层风（坐掌崩）

《广西壮族自治区壮药质量标准》（第二卷） 鸡血藤（勾勒给）

《团体标准》T/CACM 1021.111-2018 中药材商品规格等级—鸡血藤

《团体标准》T/GXAS 459-2023 鸡血藤林下生态种植技术规程

《地方标准》DB44/T 2234-2020 鸡血藤林下栽培技术规程

《地方标准》DB45/T1861—2018 鸡血藤药材商品规格与等级划分

（三）研讨确定标准主体内容

标准编制工作组在对收集的资料进行整理研究之后，2025 年召开标准编制会议，对标准的整体框架结构进行了研究，并对标准的关键性内容进行了探讨。经过研究，标准的主体内容确定为鸡血藤和含量测定等的术语和定义、试剂与材料、仪器和设备、测定步骤。

（四）调研及形成征求意见稿、送审稿

2025 年 4 月，在前期工作的基础上，通过理清逻辑脉络，整合相关的鸡血藤药材质量标准的内容，并结合生产企业实际要求的基础上，按照简化、统一等原则编制完成了团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》（草案）

2025 年 5 月，标准编制工作组在广西壮族自治区中医药研究院会议室组织涉及的部门专家对团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》（草案）进行征求意见会。最终讨论形成团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法》（征求意见稿）和编制说明。

四、主要关键指标及确定依据

标准的主体内容确定为鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素的测定-高效液相色谱法中的鸡血藤、含量测定、高效液相色谱等的术语和定义、试剂与材料、仪器和设备、测定步骤。

（一）标准涉及的技术原理及依据

采用高效液相色谱法对鸡血藤中的原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素进行测定，外标法定量。

定量分析：按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0512 的规定测定。

（二）标准涉及技术的具体实施方案

1. 样品

按照广西壮族自治区市场监督管理局关于标准编制工作的要求，标准起草小组成员于项目实施期间，深入广西金秀、河池、百色等地开展资源调查、样品采集。

鸡血藤样品产地包括广西金秀、河池、百色等地，以及老挝、云南等国家，总计 17 批，经广西壮族自治区中医药研究院胡仁传副研究员鉴定为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的干燥藤茎。样品信息见表 1。

表 1 鸡血藤样品信息

编号	产地	采集时间
S1	金秀瑶族自治县三角乡大桥屯	2024. 11. 15
S2	平南县大鹏镇罗德村大坪屯	2024. 11. 15
S3	金秀瑶族自治县罗香乡	2024. 11. 17
S4	百色市龙川镇	2024. 11. 28
S5	百色市龙川镇	2024. 11. 28
S6	防城港市防城区	2024. 11. 29
S7	梧州市藤县	2024. 12. 01
S8	防城港市上思县	2024. 12. 03
S9	百色市田林县	2024. 12. 04
S10	河池市巴马瑶族自治县	2024. 12. 05
S11	河池市环江毛南族自治县	2024. 12. 05
S12	百色市隆林各族自治县	2024. 12. 07
S13	崇左市天等县	2024. 12. 08
S14	百色市那坡县	2024. 12. 09
S15	老挝 1	2025. 05. 26
S16	老挝 2	2025. 05. 27
S17	越南	2025. 05. 28

2. 仪器与试剂

仪器：AgiLent 1260 高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司），电子天平 XSR205DU (梅特勒-托利多公司)，水浴锅 HH-6 (国华常州仪器制造有限公司)，超声波清洗器 KS-3200DE (昆山洁力美超声仪器有限公司)，手提式高速粉碎机 DFY-500C (温岭市林大机械有限公司)。

试剂：原儿茶酸（批号：110808-202207，纯度 98.0%）、儿茶素（批号：

110877-202306, 纯度 98.0%)、表儿茶素 (批号: 110878-201703, 纯度 98.0%)、芒柄花素 (批号: 111703-202401, 纯度 98.0%) 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

3.实验方法

3.1 供试品溶液制备 取鸡血藤药材粉末 1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入二氯甲烷-甲醇 (4: 1) 50ml, 称量, 超声处理 (功率 100W, 频率 40kHz) 60min, 放冷, 用二氯甲烷-甲醇 (4:1) 补足减失的量, 摇匀, 过滤, 减压浓缩至干, 甲醇溶解并定容至 5ml, 0.22um 微孔滤膜过滤, 即得。

3.2 对照品溶液制备 精密称取原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素适量, 用甲醇超声 (功率 100W, 频率 40kHz) 溶解并定容, 制得质量浓度分别为 2.57、2.58、48.07、2.50 mg/ml 的混合对照品储备液。分别精密吸取对照品储备液 0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 mL 至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液。原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素质量浓度分别为 0.129、0.129、2.404、0.125 mg/mL。

3.3 色谱条件

3.3.1 流动相的选择

分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-磷酸水溶液体系, 结果以乙腈-磷酸水溶液体系得到的保留时间适中, 色谱图峰形较好。经对比梯度和等度两种洗脱方式, 发现乙腈-0.2%磷酸水溶液梯度洗脱时供试品中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素色谱峰对称因子在 0.95 至 1.05 之间, 峰形良好, 且与其他成分的分离度大于 1.5, 结果稳定, 符合分析要求。故选择乙腈-0.2%磷酸水溶液梯度洗脱进行分析, 见表 2。

表 2 梯度洗脱程序

时间 (min)	乙腈 (%)	0.2%磷酸水 (%)
0	9	91
5	9	91
15	11	89
28	15	85
35	20	80

3.3.2 检测波长的选择

利用二极管阵列检测器在 210~400 nm 范围内扫描,发现 4 个成分的最大吸收波长分别为 260、279、279、277 nm, 故本实验选择 280 nm 作为检测波长。

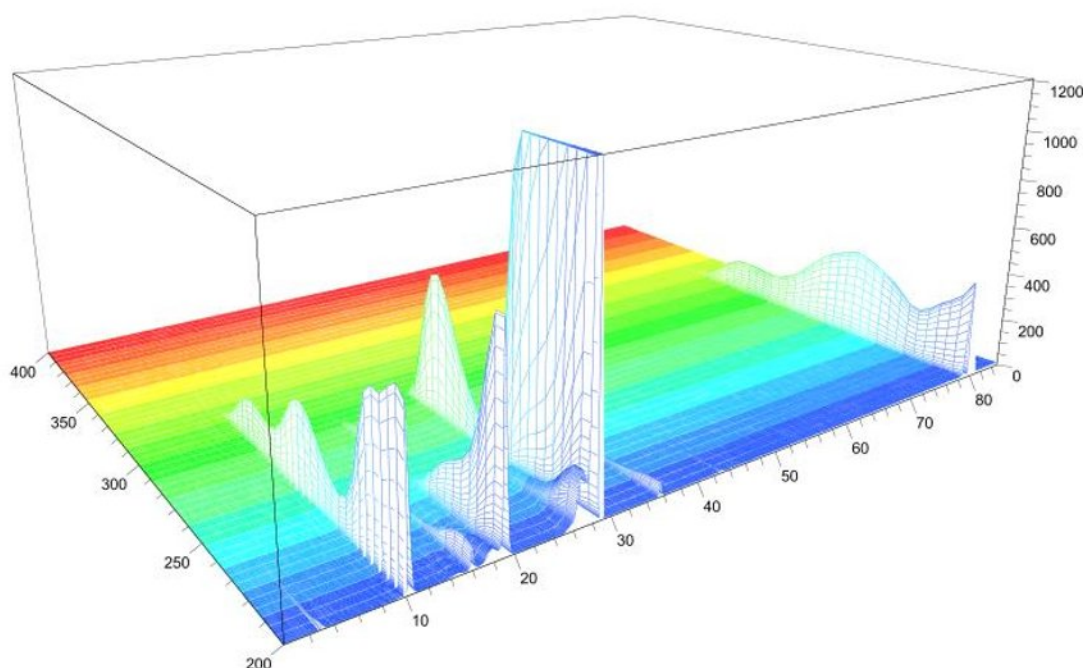


图1 对照品3D光谱图

3.3.3 色谱柱的选择

供试品分别采用 Techmate ST C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX SB-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 和 Ultimate XB-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 在同一台高效液相色谱仪 (美国 Agilent 1260 Series: 四元泵, 自动进样器, 柱温箱, DAD 检测器), 相同的色谱条件下平行进样, 进样量为 10 μL。结果表明, 采用不同的 C18 色谱柱均能使供试品得到不同程度的分离, 其中以 Techmate ST C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱的分离效果及峰形较好, 保留时间适中, 故本实验选择此色谱柱进行分析。

综上, 色谱条件: Techmate ST C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液梯度洗脱; 检测波长为 280 nm; 流速 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C。

3.4 方法学验证

3.4.1 线性关系考察

取混合对照品溶液适量，加甲醇稀释后定容，按“2.3”项下色谱条件测定，以对照品溶液的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，结果见表 3。

表 3 鸡血藤中 4 个成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg/mL)
原儿茶酸	$y = 575.6x + 11.89$	0.9995	0.0257~2.57
儿茶素	$y = 239.59x + 3.0116$	0.9998	0.0258~2.58
表儿茶素	$y = 247.8x - 0.5075$	0.9996	0.4807~48.07
芒柄花素	$y = 937.05x + 17.238$	0.9997	0.0250~2.50

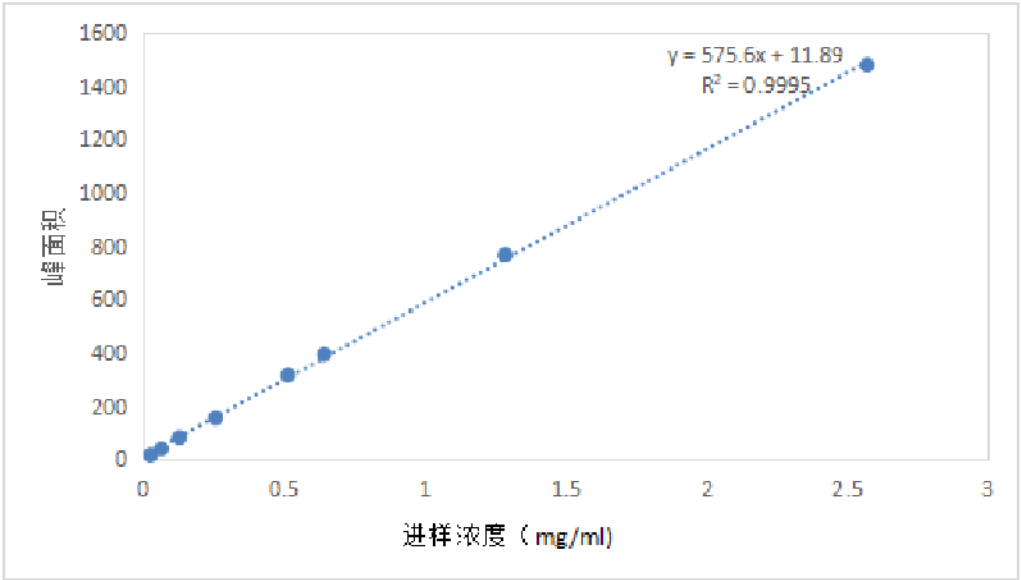


图 2 原儿茶酸标准曲线

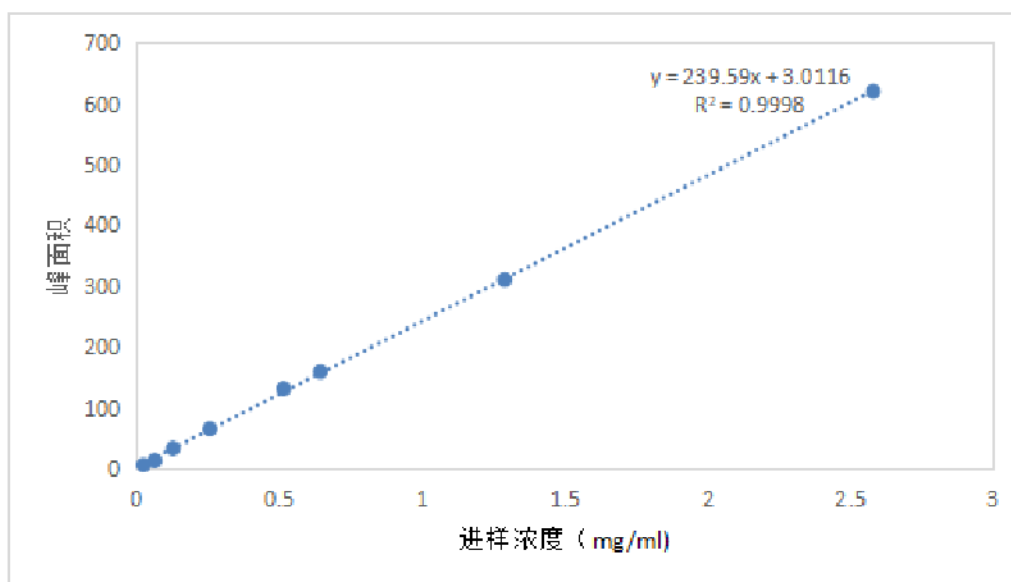


图3 儿茶素标准曲线

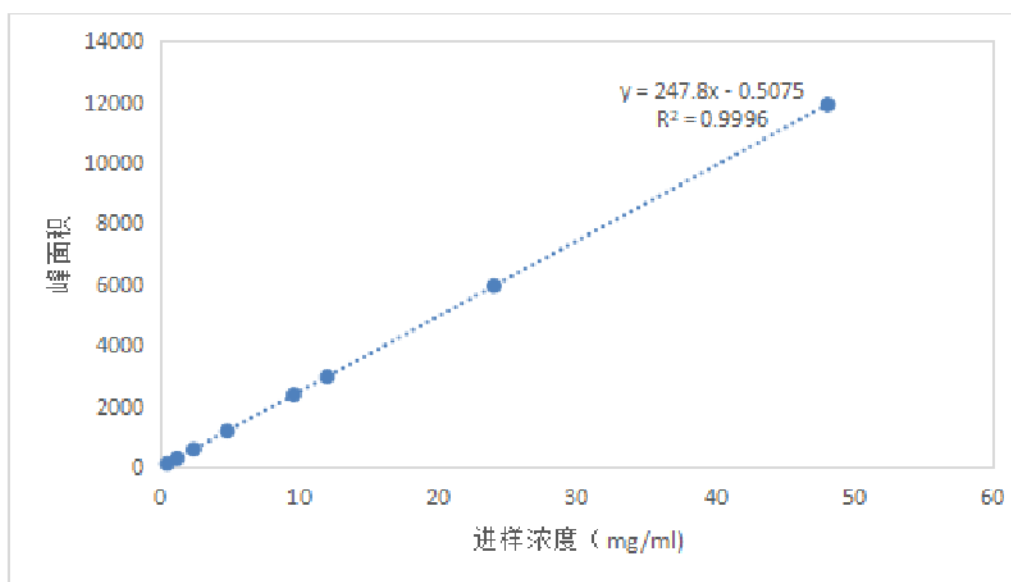


图4 表儿茶素标准曲线

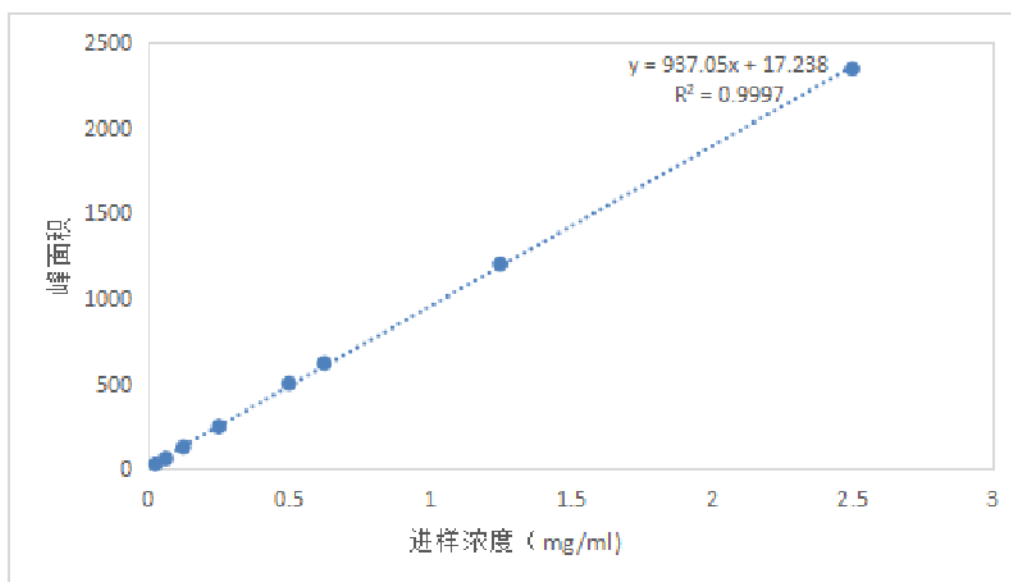


图 5 芒柄花素标准曲线

3.4.2 精密度试验

取混合对照品溶液适量，按“3.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次，计算得到原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素峰面积的 RSD 分别为 0.83%、0.75%、0.46%、0.52%，表明仪器精密度良好。

3.4.3 重复性试验

取同一批鸡血藤供试品（S1）6 份，按“3.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.3”项色谱条件进样测定，计算得到原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素峰面积的 RSD 分别为 1.86%、1.73%、1.15%、1.47%，表明该方法重复性良好。

3.4.4 稳定性试验

取鸡血藤供试品溶液（S1），分别于 0、2、4、8、16、24 h 进样测定，计算得到原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素峰面积的 RSD 分别为 0.85%、0.68%、0.38%、0.55%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.4.5 加样回收率试验

精密称取已知成分含量的鸡血藤供试品（S1）1 g，共 6 份，按 100%的比例加入各对照品，按“3.1”项下方法制备供试品溶液，按“3.3”项色谱条件进样测定，计算上述 4 个成分平均加样回收率分别为 99.20%、98.61%、99.39%、100.04%，RSD 分别为 0.80%、0.44%、0.76%、1.10%，表明方法准确度良好，结果见表 4。

表 4 鸡血藤中 4 个成分的加样回收率试验结果 (n=6)

成分	含有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
原儿茶酸	0.1811	0.1820	0.3631	99.12	99.20	0.80
	0.1789	0.1820	0.3609	100.34		
	0.1764	0.1820	0.3584	98.04		
	0.1823	0.1820	0.3643	99.47		
	0.1847	0.1820	0.3667	98.65		
	0.1803	0.1820	0.3623	99.58		
儿茶素	19.5947	20.3510	39.9457	98.68	98.61	0.44
	19.0533	20.3510	39.4043	97.94		
	20.6985	20.3510	41.0495	99.09		
	21.0062	20.3510	41.3572	98.86		
	21.3624	20.3510	41.7134	99.02		
	20.5496	20.3510	40.9006	98.43		
表儿茶素	101.1526	100.2420	201.3946	100.31	99.39	0.76
	99.4544	100.2420	199.6964	99.27		
	100.3577	100.2420	200.5997	100.14		
	100.6988	100.2420	200.9408	98.45		
	101.4653	100.2420	201.7073	98.66		
	100.0312	100.2420	200.2732	99.48		
芒柄花素	5.6746	5.6250	11.2996	99.44	100.04	1.10
	5.4231	5.6250	11.0481	101.21		
	5.4986	5.6250	11.1236	100.68		
	5.5533	5.6250	11.1783	99.24		
	5.7874	5.6250	11.4124	101.07		
	5.5118	5.6250	11.1368	98.57		

3.4.6 样品含量测定

取 17 批鸡血藤样品适量, 按“3.1”项下方法制备样品溶液, 按“3.3”项色谱条件进行测定, 计算样品中 4 个成分的含量, 结果见表 5。

表 5 鸡血藤中 4 个成分的含量测定结果 (mg/g, n=3)

编号	原儿茶酸	儿茶素	表儿茶素	芒柄花素
S1	0.3684	40.7588	200.3702	11.1725
S2	0.4812	17.3047	59.0069	4.7282
S3	0.3547	10.2026	73.3502	4.8808
S4	0.4831	36.0801	51.8718	12.3376
S5	2.7281	27.3832	53.3282	2.2435
S6	2.2031	7.4236	23.4278	2.7995
S7	4.8289	16.2522	62.6128	48.8475
S8	6.7092	20.1470	77.5398	8.5395
S9	8.1950	22.5361	84.6835	9.8714
S10	1.5591	7.7680	35.3680	2.8880
S11	2.6226	38.6366	106.7320	7.3220
S12	6.2259	27.4736	87.5315	3.6912
S13	1.1695	7.9203	25.6894	3.3112
S14	8.1325	8.2182	80.6801	19.3928
S15	0.4874	10.4906	31.2061	2.6656
S16	0.2772	12.8590	26.9547	0.6113
S17	1.3656	9.3825	35.3728	2.3748

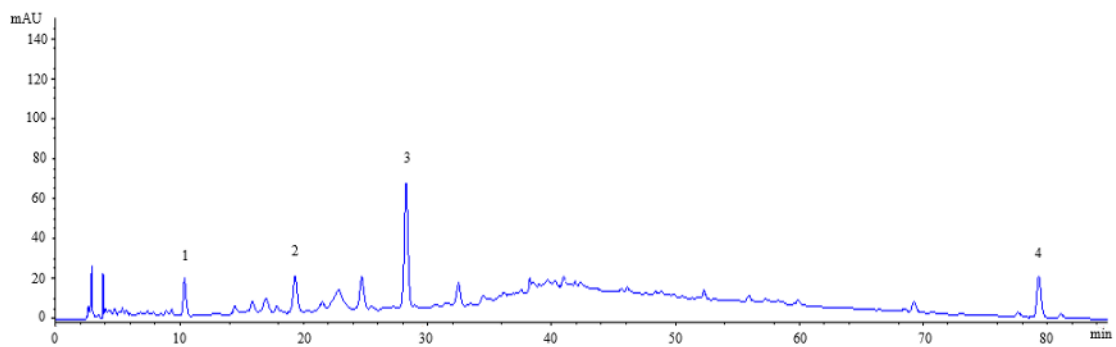
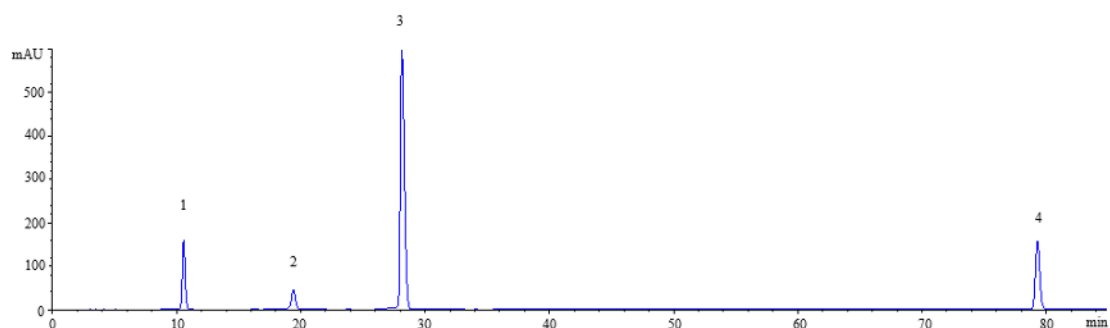


图 6 鸡血藤药材 HPLC 色谱图



1. 原儿茶酸 2. 儿茶素 3. 表儿茶素 4. 芒柄花素
图7 原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、芒柄花素混合对照品 HPLC 色谱图

五、国内外同类标准制修订情况与法律法规、强制性标准关系

经查阅，鸡血藤药材的质量标准收载于《中国药典》（2020 年版）、《广西壮族自治区瑶药材质量标准》（第一卷）、《广西壮族自治区壮材质量标准》（第二卷）中，上述标准中均未有含量测定项。本标准的建立是对上述标准的补充，为提升鸡血藤药材的质量控制水平提供依据。

本标准的内容与现行的法律、法规及强制性标准无冲突，标准的编写符合 GB/T 1.1-2020 的要求。

团体标准《鸡血藤中原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、
芒柄花素的测定-高效液相色谱法》编制工作组

2025 年 6 月 10 日