

HPLC 测定三峡库区道地药材巫溪大叶当归中阿魏酸的含量

方应权*, 易为丹

(重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 万州 404120)

[摘要] 目的: 进行库区道地药材大叶当归药材的质量标准研究, 着重建立当归药材的阿魏酸的含量测定方法。方法: 色谱条件: TSK-GEL DDS-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸 (30:70:0.3, V/V/V); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 320 nm; 柱温: 40 °C; 结果: 阿魏酸在 0.006 ~ 0.15 μg 范围内呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 4\ 564\ 754X - 3\ 882.699$, ($r = 0.999\ 9$)。并测定十批大叶当归药材阿魏酸的含量在 0.09 ~ 0.33 mg·g⁻¹ 之间。RSD 平均值为 1.26%。结论: 建立了大叶当归药材的阿魏酸的含量测定方法, 并制定了阿魏酸的含量限度, 方法操作简便、准确快速、重复性好, 有效控制大叶当归药材的质量。

[关键词] 大叶当归; 阿魏酸; HPLC 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0090-03

Determination of Ferulic Acid from *Angelica megaphylla* in Three Gorges Reservoir Area by HPLC

FANG Ying-quan*, YI Wei-dan

(Chongqing Three Gorges Medicine College, Chongqing 404120, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct quality standard study of *Angelica megaphylla* in a large reservoir area focused on the establishment of ferulic acid assay method. **Method:** Chromatographic conditions: TSK-GEL DDS-C₁₈ (4.6 mm × 150mm, 5 μm); mobile phase: methanol-water-phosphoric acid (30:70:0.3); flow rate: 1.0 mL·min⁻¹; detection wavelength: 320 nm; column temperature: 40 °C. **Result:** Ferulic acid was linear in the range of 0.006-0.15 μg, and the linear regression equation was: $Y = 4\ 564\ 754X - 3\ 882.699$ ($r = 0.999\ 9$). ferulic acid in ten batches of *A. sinensis* was determined in 0.09-0.33 mg·g⁻¹. RSD was 1.26%. **Conclusion:** The method for determination of ferulic acid and the limit developed is simple, fast and accurate, reproducible, can effectively control the quality of *A. megaphylla*

[Key words] *A. megaphylla*; ferulic acid; HPLC

大叶当归 (*A. megaphylla*) 是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的一种, 药用部位为根。分布在三峡库区的巴东、石柱、巫溪和巫山等地, 在当地常用作当归的代用品。含有与当归相同的阿魏酸、藁本内酯、挥发油等活性成分^[3,4], 具有

活血补血之功效, 阿魏酸是其主要有效成分之一。现代药理研究显示, 阿魏酸具有抑制血小板聚集、抗血栓、抗心肌缺血、缺糖、缺氧等药理作用^[1-2], 其含量测定方法主要有 HPLC^[5-7]。现行 2010 年版《中国药典》尚未收录大叶当归药材质量标准。存在安全性有效性问题。为此, 我们采用反相高效液相色谱法建立了大叶当归药材中阿魏酸的含量测定方法, 并对 10 批当归药材进行了测定, 规定其含量限度。

1 材料

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪 (美国安捷伦

[收稿日期] 20120227(017)

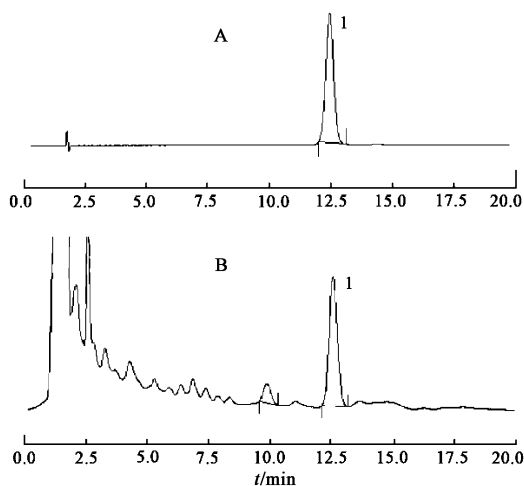
[基金项目] 重庆科技重大专项计划 (CSTC, 2010AC5171)

[通讯作者] * 方应权, 硕士研究生, 副教授, 副主任药师, 从事中药化学及质量标准研究, Tel: 13594468289, E-mail: fangyingquan@yahoo.com.cn

科技有限公司),8453型紫外-可见分光光度计(美国安捷伦科技有限公司),LG16-W高速微量离心机(北京医学离心机厂),SB3200-型超声波提取器(上海能信超声有限公司),Millipore simplicity-185型超纯水器(美国密里博公司),BP 211D型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。大叶当归采自巫溪大宁河畔1500 m高山上,由三峡中药研究所付绍智教授鉴定。阿魏酸(20100516),甲醇、乙腈均为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯。

2 巫溪大叶当归中阿魏酸的含量测定方法

2.1 方法与结果^[8,10] TSK-GEL DDS-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(30:70:0.3),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长320 nm,柱温40℃,理论板数按阿魏酸峰计算不低于5000。对照品、样品及阴性对照色谱图见图。



A. 对照品;B. 浓缩当归膏样品;1. 阿魏酸

图1 大叶当归高效液相色谱

2.2 对照品溶液的制备 取阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含10 μg的溶液,摇匀,即得。测定波长的选择取在200~400 nm进行光谱扫描,结果在320 nm处有最大吸收,所以选择320 nm作为检测波长。

2.3 供试品溶液的制备 供试品溶液的制备及提取条件的选择取本品10批次,研细,取细粉约0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入90%甲醇溶液-盐酸(100:1)的混合溶液10 mL,称定质量,超声处理(功率120 W,频率40 kHz)30 min,放冷至室温,再称定质量,用上述混合溶液补足减失的质量,摇匀,用微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 标准工作曲线、线性范围及检测限 精密吸取对照品溶液(0.006 g·L⁻¹)1,5,10,15,20,25 μL依

法进样,测定峰面积,以进样量(μL)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,结果见表7。求得回归方程为 $Y = 4\ 564\ 754X - 3\ 882.699$ ($r = 0.999\ 9$)。阿魏酸在0.006~0.15 μg呈良好的线性关系。

根据《中国药典》(中国药典现行版一部附录XVIII A)中药质量标准分析方法验证指导原则的规定,用一系列已知浓度的供试品进行分析,测得阿魏酸最低检测限为 1.1×10^{-3} g·L⁻¹(信噪比S/N=3)。

2.5 精密度试验 取同1份阿魏酸对照品溶液(0.012 g·L⁻¹),连续进样5次,测定峰面积,求得RSD 0.67%。

2.6 稳定性试验 取浓缩当归样品,依法制备供试品溶液,并于0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 h分别依法进行测定,求得峰面积的RSD 1.11%。

2.7 重复性试验 按供试品溶液的制备方法,对同一批供试品进行了6次平行制备和测定,试验结果RSD 1.20%,表明该方法重复性良好。

2.8 重复性试验 在2个不同的试验室内(每个试验室进行3次测定),分别由不同的人员,按上述供试品溶液的制备方法 & 色谱条件,重复测定同一批浓缩当归6次,试验结果RSD 0.93%。

2.9 加样回收试验 精密称取已知含量的同一批样品6份,分别加入一定量的阿魏酸对照品,按样品含量测定项下方法测定,计算回收率,结果见表1。

表1 阿魏酸加样回收试验

序号	取样量 /g	原有量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.202 1	0.039 2	0.041	0.078 8	96.59	96.91	1.67
2	0.207 4	0.040 2	0.041	0.080 5	98.29		
3	0.203 4	0.039 4	0.041	0.080 2	99.51		
4	0.201 1	0.039 4	0.041	0.077 8	94.63		
5	0.204 2	0.039 6	0.041	0.078 8	95.61		
6	0.205 3	0.039 8	0.041	0.079 5	96.83		

2.10 阿魏酸含量测定 在进行流动相的选择时,分别对①乙腈-0.085%磷酸(17:83);②甲醇-水-磷酸(30:70:0.3);③甲醇-水-乙酸(33:66:1);④甲醇-水-磷酸(35:65:0.5)等不同组分、不同比例的流动相进行了比较,认为以甲醇-水-磷酸(30:70:0.3)为流动相进行检测时,阿魏酸峰可获得良好的分离效果。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液和10 μL,注入液相色谱仪,依上述色谱条件测定。样品含量测定结果见表2。

高效毛细管电泳法测定不同产地多叶棘豆中 3 种黄酮类化合物含量

海平^{1*}, 苏雅乐其其格²

(1. 内蒙古民族大学化学化工学院, 内蒙古 通辽 028043;

2. 内蒙古民族大学农学院, 内蒙古 通辽 028043)

[摘要] 目的: 建立高效毛细管电泳法同时测定不同产地多叶棘豆中 3 种黄酮类化合物含量的方法。方法: 采用高效毛细管电泳法, 弹性石英毛细管柱 75 $\mu\text{m} \times 50 \text{ cm}$, 电动进样 15 s, 分离电压 18 kV, 毛细管温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长为 283 nm, 运行缓冲液为 0.25 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂 30% 乙腈溶液。结果: 不同产地多叶棘豆中 3 种黄酮类化合物的含量有较大差异, 所用实验条件下, 3 种对照品溶液分别在 1.00 ~ 40.00 ($r = 0.999\ 8$), 2.00 ~ 80.00 ($r = 0.999\ 9$), 0.50 ~ 80.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.999\ 6$) 具有良好的线性关系, 平均回收率均 > 96.00%, $\text{RSD} < 2.0\%$ 。结论: 建立的高效毛细管电泳法可作为多叶棘豆质量控制的一种方法。

[关键词] 多叶棘豆; 高效毛细管电泳法; 黄酮类

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0092-04

Determination of Three Flavonoids in *Oxytropismyriophylla* from Different Habitats by HPCE

HAI Ping^{1*}, Suyaleqiqige²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University

[收稿日期] 20111207(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960525)

[通讯作者] * 海平, 硕士, 副教授, 从事有机合成及天然产物化学研究, Tel: 15847562916, E-mail: tlsyl2006@163.com

表 2 10 批当归药材阿魏酸含量测定

批号	阿魏酸 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%	批号	阿魏酸 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
1	0.203 4	1.10	101112	0.158 8	1.68
2	0.331 9	1.08	100929	0.288 2	1.05
3	0.235 8	1.50	100711	0.192 1	1.02
4	0.186 9	1.12	100223	0.208 4	1.06
5	0.099 1	1.75	100233	0.180 4	1.35

3 讨论

大叶当归药材中阿魏酸的 HPLC 法测定含量和 2010 年版《中国药典》同法测定偏低, 建议在民间使用时适当加大使用量。在正品当归药材资源来源和产量不足的情况下, 发现和扩大其生药来源有着积极意义。

[参考文献]

[1] 黄伟晖, 宋纯青. 当归的化学和药理学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(3): 147.
[2] 韦玮, 龚苏晓, 张铁军, 等. 当归多糖类成分及其药理

作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2009, 32(2): 130.

[3] 裴媛, 谭初兵, 徐为人, 等. 当归苯酚类和萜类成分作用的虚拟评价[J]. 中草药, 2010, 41(6): 938.
[4] 严辉, 段金殿, 钱大玮, 等. 我国不同产地当归药材质量的分析与评价[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1988.
[5] 刘东辉, 黄水清, 黄月纯, 等. 当归补血汤皂苷类成分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2006, 29(8): 844.
[6] 王庆敏, 李晓宁, 王兵, 等. 当归补血汤有效部位指纹图谱归属分析[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2658.
[7] 孙备, 杨士友, 裴月梅, 等. 清上瀉痛颗粒的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(6): 3.
[8] 王婕, 建邦, 宋平顺. 中阿魏酸、藜本内酯含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 70.
[9] 唐力英, 王祝举, 赫炎, 等. 高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 14.
[10] 张慕群, 孟召全, 崔淑莲. 调经止痛颗粒质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 62.

[责任编辑 顾雪竹]