

# HPLC 测定不同来源川楝子中阿魏酸的含量

周浓<sup>1</sup>, 杨敏<sup>1</sup>, 白志川<sup>2</sup>, 段宝忠<sup>1</sup>, 姜北<sup>1\*</sup>

(1. 大理学院 药学院, 云南 大理 671000; 2. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 北碚 400716)

**[摘要]** 目的: 建立川楝子药材中阿魏酸的含量测定方法, 并对不同来源商品药材进行测定。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Ultrasphere<sup>TM</sup>-ODS 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(15:85), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 322 nm, 柱温 25 °C。结果: 阿魏酸进样量在 0.010 ~ 0.160 μg 线性关系良好( $r = 0.9999$ ), 平均回收率( $n = 9$ )为 97.88%, RSD 0.68%。不同来源药材中阿魏酸的含量在 0.0067 ~ 0.0279 mg·g<sup>-1</sup>。结论: 不同来源的川楝子药材中阿魏酸含量差异较大。该方法可作为评价川楝子质量的指标之一。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 川楝子; 阿魏酸; 不同来源

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0084-04

## Determination of Ferulic Acid in Fructus Toosendan from Different Origins by HPLC

ZHOU Nong<sup>1</sup>, YANG Min<sup>1</sup>, BAI Zhi-chuan<sup>2</sup>, DUAN Bao-zhong<sup>1</sup>, JIANG Bei<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop an HPLC method to determine the contents of ferulic acid in Fructus Toosendan from different origins. **Method:** The HPLC analysis was performed on a Ultrasphere<sup>TM</sup>-ODS column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), and the mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (15:85) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detective wavelength was at 322 nm and the column temperature was 25 °C. **Result:** The calibration curve was linear in the range of 0.010-0.160 μg ( $r = 0.9999$ ), and the average recovery ( $n = 9$ ) was 97.88%. The contents of ferulic acid in Fructus Toosendan from different origins was in the range of 0.0067-0.0279 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The content of ferulic acid in Fructus Toosendan samples from different origins is quite different. The method reported in this study is suitable for the quality control of Fructus Toosendan.

**[Key words]** HPLC; Fructus Toosendan; ferulic acid; different origins

川楝子系楝科植物川楝的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>, 为《中国药典》记载的常用理气止痛中药材之一, 具有疏肝泄热、行气止痛、杀虫之功效, 临床多用于治疗胸胁、脘腹胀痛、疝气疼痛、虫积腹痛等, 与其他药物配伍用于各种炎症性疾病、痢疾、冠心病心绞痛等<sup>[2-3]</sup>。

川楝子的主要活性成分为萜类、黄酮类、酚类化合物、木脂素类和油脂类成分等<sup>[4-5]</sup>。其中, 阿魏酸是川楝子的主要活性成分, 为川楝子药材质量重要衡量指标之一, 具有抗菌、抗炎、抗血小板聚集、抗血栓、抗紫外线辐射等多种生物活性<sup>[6]</sup>, 在医药、保健品、化妆品和食品添加剂等领域的应用日益扩大<sup>[7]</sup>。《中国药典》2010 年版一部中对川楝子的质量控制仅记载了药材中川楝素的含量测定项<sup>[1]</sup>, 不能系统、完整地反映川楝子的内在质量。为了弥补采用单一成分含量测定来评价药材质量的不足, 本研究建立了高效液相色谱法测定川楝子中阿魏酸含量的方法, 并用该方法对 32 个不同商品来源川楝子

**[收稿日期]** 20110503(003)

**[第一作者]** 周浓, 讲师, 从事药用植物栽培与质量控制, Tel: 0872-2257411, E-mail: erhaizn@126.com

**[通讯作者]** \*姜北, 教授, 从事药用植物化学与资源研究, Tel: 0872-2257316, E-mail: northjiang@yahoo.com

样品中的阿魏酸进行含量测定与分析,以期为川楝子药材及其制剂的质量控制提供参考依据。

## 1 仪器与试剂

1100 LC 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),RE-2000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-III 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),AE240 天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],FZ102 型微型植物试样粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)。

阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110773-200611,供含量测定用),乙腈为色谱纯(美国 Tedia 试剂公司),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。川楝子样品分别购买于云南省景谷市等 32 个药材市场/药店,并经西南大学园艺园林学院白志川教授鉴定为楝科植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Ultrasphere™-ODS 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(15:85),检测波长 322 nm,柱温 25 °C,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。对照品和川楝子样品分离的色谱图见图 1。

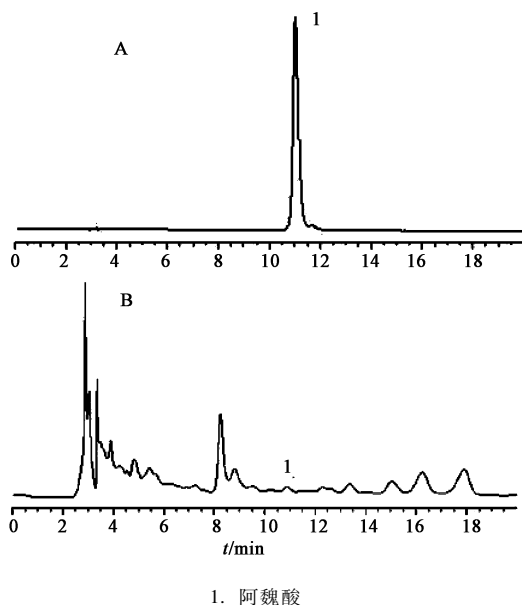


图 1 对照品(A)、川楝子供试品(B)的 HPLC

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇-甲酸(95:5)制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品粉末(过三号

筛)约 3 g,精密称定,置 150 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇-甲酸(95:5)90 mL,55 °C 超声处理 30 min,静置放冷,滤过,重复操作 1 次,合并提取液,回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 棕色量瓶中,定容至刻度,摇匀,即得。

**2.3 线性关系考察** 分别精密吸取对照品溶液(含阿魏酸 10.0 mg·L<sup>-1</sup>)1,2,4,8,12,16 μL,注入液相色谱仪,得进样量  $X(\mu\text{g})$  与峰面积  $Y$  的线性方程。结果表明,阿魏酸进样量分别在 0.010 ~ 0.160 μg 与峰面积成良好的线性关系,回归方程分别为  $Y = 5\,506.8X + 2.7518 (r = 0.9999)$ 。

**2.4 精密度试验** 取阿魏酸对照品溶液(10.0 mg·L<sup>-1</sup>),每次进样量为 10 μL,连续测定,共进样 6 次,测定阿魏酸对照品峰面积的 RSD 0.28% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

**2.5 重复性试验** 取同一川楝子样品 6 份(云南省大理市),按 2.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备及 2.1 项下色谱条件测定,测得阿魏酸的平均含量为 0.0126 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 1.08% ( $n = 6$ ),表明本方法重复性良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液(云南省大理市),室温密闭放置,分别在制备后 0,2,4,6,8,10 h 进样,测定阿魏酸峰面积,RSD 1.89% ( $n = 6$ ),表明样品溶液在 10 h 内稳定。

**2.7 加样回收率试验** 精密称取已知含量的川楝子药材约 1.50 g(云南省大理市),共 9 份,分别精密加入一定量的阿魏酸对照品,按 2.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备及 2.1 项下色谱条件测定。结果表明,其平均回收率为 97.88%,RSD 0.68%,符合分析要求。结果见表 1。

**2.8 样品含量测定** 分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,以峰面积代入回归方程中计算阿魏酸的含量,结果见表 2。

## 3 讨论

供试品溶液制备方法的选择:试验中分别考察了超声提取、加热回流、索氏提取等方法的提取效果,以超声提取法的提取效率最高<sup>[8-10]</sup>。而超声提取法中,又分别比较了不同的溶剂(甲醇、乙醇、甲醇-甲酸、乙醇-乙酸等)、不同的提取温度、不同固液比、不同的提取时间、不同的提取次数等的提取效果,试验表明以甲醇-甲酸(95:5)为提取溶剂,提取温度 55 °C,料液比 1:30(g:mL),提取 2 次,每次 30 min,可将川楝子中的阿魏酸基本提取完全。

表 1 阿魏酸加样回收率试验 ( $n=9$ )

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.501 2	0.018 9	0.015 0	0.033 6	98.41		
1.500 6	0.018 9	0.015 0	0.033 8	99.47		
1.500 8	0.018 9	0.015 0	0.033 4	97.35		
1.500 1	0.018 9	0.019 0	0.037 4	97.35		
1.501 8	0.018 9	0.019 0	0.037 5	97.88	97.88	0.68
1.501 3	0.018 9	0.019 0	0.037 7	98.94		
1.501 1	0.018 9	0.023 0	0.041 4	97.35		
1.501 0	0.018 9	0.023 0	0.041 6	98.41		
1.501 4	0.018 9	0.023 0	0.041 4	97.35		

表 2 不同产地川楝子中阿魏酸的含量 ( $n=3$ )

mg·g<sup>-1</sup>

No.	购买地	阿魏酸	No.	购买地	阿魏酸
1	云南景谷市(生品)	0.009 7	17	海南海口市(生品)	0.006 7
2	云南勐腊县(炒品)	0.018 4	18	广东深圳市(炒品)	0.007 7
3	云南丽江市(炒品)	0.016 6	19	广西南丹县(炒品)	0.019 8
4	云南昆明市(炒品)	0.011 5	20	湖南涟源市(炒品)	0.011 6
5	云南曲靖市(生品)	0.008 1	21	吉林长春市(炒品)	0.011 1
6	云南丘北县(炒品)	0.011 8	22	吉林吉林市(炒品)	0.010 5
7	云南陇川县(炒品)	0.010 4	23	浙江义乌市(炒品)	0.013 8
8	云南玉溪市(炒品)	0.012 3	24	河南前台县(炒品)	0.016 8
9	云南腾冲县(炒品)	0.020 6	25	安徽宿州市(炒品)	0.015 1
10	云南楚雄市(生品)	0.013 1	26	陕西大荔县(生品)	0.014 9
11	云南宣威市(生品)	0.014 4	27	陕西华县(生品)	0.014 0
12	云南大理市(生品)	0.012 6	28	山西太原市(炒品)	0.019 5
13	重庆万州区(生品)	0.009 6	29	青海互助县(炒品)	0.011 5
14	重庆大足县(炒品)	0.023 1	30	甘肃白银市(炒品)	0.027 9
15	四川隆昌县(炒品)	0.012 9	31	河北邢台市(生品)	0.010 8
16	四川德阳市(炒品)	0.013 1	32	北京通州区(生品)	0.009 0

阿魏酸不稳定,遇光和热迅速分解,导致其含量降低,难以获得准确的测定结果。因此在样品及对对照品的溶剂系统中加入适量的甲酸<sup>[6,9]</sup>,保持其相对的稳定性。

流动相的选择:在流动相系统的选择中,试验比较了甲醇-水、乙腈-水等流动相系统<sup>[6-9]</sup>,从分离情况和出峰时间等综合分析,选择乙腈-0.1%磷酸溶液(15:85)等度洗脱,所得峰形对称且分离度较好,保留值适宜,柱后处理简便、省时。

检测波长的选择:阿魏酸对照品色谱峰和 32 个样品中目标组分相应色谱峰的紫外扫描(190~400 nm)显示,保留值相同处紫外光谱基本一致,在 322

nm 波长处有最大吸收,故选定 322 nm 波长作为测定波长<sup>[6-9]</sup>。

由表 2 可知,不同来源的川楝子药材中阿魏酸的含量差异较大,其含量范围为 0.006 7~0.027 9 mg·g<sup>-1</sup>,平均含量为 0.015 3 mg·g<sup>-1</sup>。炮制品普遍比生品中阿魏酸含量有所增高,与升麻、川芎、当归等药材的研究结果类似<sup>[11-13]</sup>,但个别川楝子生品反而高于炮制品,这可能与炮制温度过高等原因有关<sup>[11-13]</sup>,有待进行深入的研究。

本试验采用高效液相色谱法测定阿魏酸含量,方法简单,快速,准确度高,重复性好,可为川楝子药材及其制剂的质量控制提供参考。

# 女贞子多糖的提取工艺及单糖组成

张明月, 邹一可, 王彩云, 王东\*  
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:** 优选女贞子多糖的最佳提取工艺并测定其单糖组成及摩尔比。**方法:** 采用正交试验法, 以多糖提取率为评价指标, 对女贞子多糖的提取因素进行研究, 用苯酚-硫酸比色法对女贞子多糖进行含量测定。多糖经硫酸水解后, 水解产物利用高效液相色谱(HPLC)分析其单糖组成及摩尔比。**结果:** 女贞子多糖的最佳提取工艺为 10 倍量水, 回流提取 3 次, 3 h/次; 该多糖由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖和葡萄糖 4 种单糖组成, 其摩尔比为 3.71:3.21:1.00:16.06。**结论:** 该方法简便、准确, 可用于女贞子多糖的单糖组成测定及质量控制。

**[关键词]** 女贞子多糖; 提取工艺; 单糖组成

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0087-03

## Optimum Extracting Method and Monosaccharide Composition of Polysaccharide from *Ligustrum lucidum*

ZHANG Ming-yue, ZOU Yi-ke, WANG Cai-yun, WANG Dong\*  
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the extraction process of polysaccharide from *Ligustrum lucidum* Ait. (PLLA) and analyze monosaccharide composition of PLLA. **Method:** With the extraction efficiency of polysaccharide as the index, an orthogonal design test was adopted to optimize the extraction process. The phenol-sulphuric acid colorimetric method was used to determine the content of PLLA. The PLLA was hydrolyzed by sulfuric acid, the

**[收稿日期]** 20110809(008)

**[第一作者]** 张明月, 硕士, 从事中药制剂分析, Tel:13674247273, E-mail:happyvivan0713@126.com

**[通讯作者]** \*王东, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础和质量标准研究, Tel:13842099959, E-mail:wdtcm@163.com

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 39.
- [2] 刘红亚, 崔红梅, 周绚. RP-HPLC 法测定川楝子药材中川楝素的含量[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2008, 10(3): 52.
- [3] 张廷模. 临床中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 335.
- [4] 程雷, 雷勇, 梁媛媛, 等. 川楝子不同提取部位药效及毒性的比较研究[J]. 中药材, 2007, 30(10): 1276.
- [5] 谢帆, 张勉, 张朝凤, 等. 川楝子的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(14): 1066.
- [6] 赵东平, 杨文钰, 陈兴福. 阿魏酸的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1839.
- [7] 张志清, 帅瑾, 周利茗, 等. 超声波辅助碱醇提取麦麸中阿魏酸工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 83.
- [8] 吕光华, 程世琼, 陈金泉, 等. HPLC 测定川芎药材和饮片中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量及其质量评价指标[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 194.
- [9] 黄罗生, 郭健新, 刘咏梅, 等. HPLC 测定阿魏酸含量的探讨[J]. 中成药, 2004, 26(2): 134.
- [10] 王秀杰, 马琳. 中药材中阿魏酸的提取精制方法评价[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 157.
- [11] 潘瑞乐, 陈迪华, 斯建勇, 等. 升麻炮制前后有效成分的比较研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1335.
- [12] 赖永旭, 范时根. 正交实验法优选川芎饮片的生产工艺[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(5): 446.
- [13] 宋金春, 胡传芹, 刘红, 等. 炮制对当归药材有效成分的影响[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(14): 1052.

[责任编辑 蔡仲德]