

乌骨藤药材中绿原酸的含量测定方法研究

王月敏^{*}, 夏素霞, 于绍军, 王淑清
(辽宁省中医药研究院, 辽宁 沈阳 110034)

[摘要] 目的: 建立乌骨藤药材中绿原酸的高效液相测定方法。方法: 采用 Hypersil ODS2 色谱柱(5 μ m, 4.6 mm \times 200 mm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸(9: 91); 流速: 0.9 mL/min; 检测波长 327 nm。结果: 绿原酸色谱峰得到很好的分离, 在 0.051 2~0.819 2 μ g 范围内线性关系良好($r=0.9991$), 回收率 97.59%。结论: 该方法精密度高, 重复性好, 可用于控制药材的质量。

[关键词] 绿原酸; 乌骨藤; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)07-0012-02

乌骨藤具有抗肿瘤、平喘等作用。乌骨藤制成的制剂消癌平片中绿原酸含量的测定研究已有报道^[1]。虽然在消癌平注射液基础上已有消癌平片、消癌平颗粒、消癌平胶囊、消癌平软胶囊等多种制剂已经获得生产许可或正在申报, 但乌骨藤药材的标准中却无含量测定项, 加之乌骨藤因产地、采收季节

等原因, 质量差异较大, 因此本文对乌骨藤药材中绿原酸含量测定的方法进行了研究。结果显示本方法重复性好, 稳定, 可作为控制本品质量的标准。

1 仪器、试剂与试药

仪器: 江申 LC-10P 液相泵, LC-10 UV 检测器, 天津 HS3120 超声波清洗器; 岛津 UV-260 分光光度计;
试剂: 甲醇为色谱纯。其它试剂为分析醇, 水为重蒸馏水。

药材: 乌骨藤药材购于辽宁省药材公司, 经曲以瞬鉴定为萝藦科植物乌骨藤 *Marsdenia tenocissima*

[收稿日期] 2006-11-13

[通讯作者] * 王月敏, Tel: (024) 86112937; E-mail: WYMMOON66@sina.com

(Roxb.) Wight et Arn. 的干燥藤茎。

绿原酸对照品来源于中国药品生物制品检定所(批号: 110753—200212), 供含量测定用, 经纯度检查, 含量为 99.64%。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性 Hypersil ODS2(5 μ m 4.6 mm \times 200 mm) 色谱柱; 乙腈-0.4% 磷酸(9: 91) 为流动相; 流速: 0.9 mL/min; 检测波长 327 nm; 进样量 10 μ L; 理论塔板数按绿原酸峰计算应不低于 5 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的绿原酸对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 50 μ g 的溶液, 即得。

2.3 线性关系考察 精密吸取绿原酸对照品溶液(51.2 μ g/mL) 1, 2, 4, 8, 12, 16 μ L, 分别注入液相色谱仪中, 测定峰面积。以峰面积值(A) 对进样量(C) 进行回归, 得标准曲线方程: $A = 6.3183 \times 10^6 C - 6.3964 \times 10^4$, $r = 0.9991$ 。

进样量在 0.051 2~ 0.819 2 μ g 范围内, 绿原酸峰面积与进样量有良好的线性关系。

2.4 供试品溶液的制备 取乌骨藤粉(40 目) 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称重, 超声处理 20 min, 放冷, 称重, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.5 精密度考察 吸取同一供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 重复 5 次, 测定峰面积, 结果 RSD= 1.04%。

2.6 稳定性考察 供试品溶液于 0.1, 2, 4, 6 h 吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 结果 RSD= 0.71%, 表明 6 h 内供试品溶液的稳定性较好。

2.7 重复性考察 取药材粉 5 份, 制成供试品溶液, 分别吸取每一供试品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算含量, 结果 RSD= 1.09%。

2.8 回收率考察 采用加样回收实验方法, 取已测得含量的样品(1.89 mg/g) 共 6 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 分别加入绿原酸对照品溶液(0.398 mg/mL) 1 mL 和 50% 甲醇 24 mL, 按供试品溶液制备方法, 测定绿原酸的含量, 计算回收率。其试验结果见表 1。

表 1 绿原酸加样回收率考察结果

取样量 (g)	样品中 含量(mg)	加入对照 品量(mg)	检出总量 (mg)	回收率 %	平均回 收率%	RSD%
0.250 2	0.472 9	0.398	0.867 7	99.20		
0.249 1	0.470 8	0.398	0.856 3	96.86		
0.251 4	0.475 1	0.398	0.865 4	98.07	97.59	1.13
0.248 8	0.470 2	0.398	0.859 5	97.81		
0.244 2	0.461 5	0.398	0.850 1	97.64		
0.253 6	0.479 3	0.398	0.861 2	95.95		

2.10 3 批药材的含量测定 我们测定了 3 批药材中绿原酸的含量, 结果分别为 0.083, 0.124, 0.203%。

3 结论与讨论

在前期预实验中我们发现, 药材的提取条件对绿原酸的含量影响较大, 特别是提取溶媒的影响。故我们对提取方法、提取溶媒、提取时间进行了详细的考察, 因篇幅所限, 本文仅报道了不同浓度甲醇的超声提取部分。比较了超声与回流提取 2 种方法, 绿原酸的提取效果接近, 超声方法较回流提取简便, 易于操作, 故选择超声提取方法。

绿原酸极性较大, 采用 30%, 50%, 70% 甲醇提取, 效果接近, 因 30% 甲醇提取液滤过困难, 故选择以 50% 甲醇作为提取溶媒为宜。

采用 50% 甲醇为提取溶媒, 考察了超声提取 10, 15, 20, 25, 30 min, 结果超声提取 20 min, 绿原酸提取即已完全, 故超声提取 20 min 即可。

在测定的乌骨藤药材中绿原酸的含量与已报道^[1] 的结果相差 10 倍, 我们分析原因可能有二: 其一, 药材产地不同所致含量差异较大, 我们所测定的 3 批药材产于云南, 而文献中未提到实验所用药材的产地; 另一个原因是提取方法不同所致, 文献中提取溶媒采用的是甲醇, 而我们在提取条件考察中发现甲醇不能将绿原酸提取完全, 而致含量偏低。

[参考文献]

[1] 谭朝阳, 雷玉萍. HPLC 法测定乌骨藤及其制剂消癌平片中绿原酸的含量研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(7): 1354.