

RP - HPLC 测定藏药柳茶中阿魏酸和异阿魏酸的含量

陈璐,陶婷婷,王天志*

(四川大学华西药学院,四川 成都 610041)

摘要: 目的 建立测定藏药柳茶中阿魏酸与异阿魏酸含量的方法。方法 采用高效液相色谱法。岛津 CLC - ODS 色谱柱 (150 mm ×6 mm,5 μm),流动相为 0.1 %磷酸水溶液 - 甲醇(71:29),流速 1 ml ·min⁻¹,检测波长 322 nm,柱温 30℃。结果 阿魏酸和异阿魏酸浓度分别在 2.31 ~ 36.96 μg ·ml⁻¹ ($r=0.9989$) 和 8.09 ~ 129.44 μg ·ml⁻¹ ($r=0.9998$) 范围内与峰面积呈良好的线性关系;样品中阿魏酸和异阿魏酸平均回收率分别为 98.16 %和 98.58 %,RSD 分别为 0.49 %和 0.70 % ($n=3$)。结论 所建方法准确、简便,适用于藏药柳茶中阿魏酸和异阿魏酸的含量测定。

关键词: 藏药;柳茶;阿魏酸;异阿魏酸;高效液相色谱法

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1006 - 0103(2006)02 - 0196 - 02

Determination of ferulic acid and isoferulic acid in *Sibiraea angustata* by RP - HPLC

CHEN Lu,TAO Ting - ting,WANG Tian - zhi*

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a method to determine ferulic acid (FA) and isoferulic acid (IA) in *Sibiraea angustata*. **METHODS** A Shimpack CLC - ODS column (150 mm ×6 mm, 5 μm) was used at the temperature of 30℃. The mobile phase consisted of 0.1 % phosphoric acid solution - methanol (71:29). The flow rate was 1 ml ·min⁻¹ and the UV detector was set at 322 nm. **RESULTS** The calibration curves were linear in the range of 2.31 - 36.96 μg ·ml⁻¹ ($r=0.9989$) for ferulic acid and 8.09 - 129.44 μg ·ml⁻¹ ($r=0.9998$) for isoferulic acid. The average recoveries were 97.76 % and 98.58 % with RSD of 0.94 % and 0.70 % ($n=3$), respectively. **CONCLUSION** The method is accurate, simple. It can be suitable for the determination of ferulic acid and isoferulic acid in *Sibiraea angustata*.

Key words: Tibetan drug; *Sibiraea angustata*; Ferulic acid; Isoferulic acid; HPLC

CLC number:R927.2

Document code:A

Article ID:1006 - 0103(2006)02 - 0196 - 02

柳茶来源于蔷薇科植物窄叶鲜卑花 *Sibiraea angustata* (Rehd.) Hand. - Mazz.。藏族民间常以其叶和嫩枝入药,治疗消化不良、胃痛、关节痛等症。柳茶属高山植物,分布在四川、青海、甘肃、云南等省^[1]。我们从其乙醇提取物中分离得到了多个具有生理活性的有机酚酸类化合物,以阿魏酸 (FA) 和异阿魏酸 (IA) 为主,其含量测定尚未见报道。现采用反相高效液相色谱法测定柳茶中 FA 和 IA 的含量。方法简便、准确,可作为藏药柳茶质量控制的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC - 10A 高效液相色谱仪包括 SPD - 10A 紫外可见光检测器,CTO - 10A 柱温箱,C - R7Ae plus 处理器(日本岛津)。阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所);异阿魏酸对照品(自制,经熔点、¹H NMR、¹³C NMR 证实);水为重蒸馏水;甲醇为色谱纯;甲酸、磷酸为分析纯;柳茶(采自四川省松潘县,经四川大学华西药学院生药学教研室唐心曜教授鉴定)打粉,过 40 目筛,备用。

作者简介:陈璐(1982 -),女,正攻读生药学专业的硕士学位。

*通讯作者(Correspondent author)

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为岛津 CLC - ODS 柱 (150 mm ×6 mm,5 μm);流动相为 0.1 %磷酸水溶液 - 甲醇 (71:29);流速 1 ml ·min⁻¹;检测波长 322 nm;柱温 30℃。对照品、供试品溶液的色谱图见图 1。

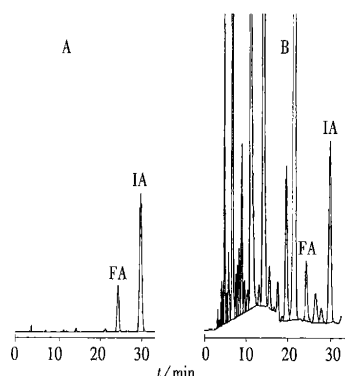


图1 对照品溶液(A)和供试品溶液(B)的色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of standard solution (A) and sample solution (B)

1.2.2 溶液的制备 精密称取 FA 对照品 2.31 mg,置 25 ml 棕色量瓶中,用含 5 %甲酸的甲醇溶液定

容,得浓度为 $0.0924\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的FA对照品溶液(冰箱保存)。精密称取IA对照品 8.09 mg ,置 25 ml 量瓶中,用含 5% 甲酸的甲醇溶液定容,得浓度为 $0.3240\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的IA对照品溶液(冰箱保存)。精密称取柳茶药材粉末约 0.25 g ,加入 10 ml 含 5% 甲酸的甲醇溶液^[2],超声振荡提取 60 min ,过滤,取滤液 1 ml ,离心($8\times 10^3\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 20 min 。取上清液,微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

1.2.3 线性关系 分别精密量取FA和IA对照品溶液各 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.00 、 3.00 、 4.00 ml ,分置6个 10 ml 量瓶中,用含 5% 甲酸的甲醇溶液定容。分别取 $5\text{ }\mu\text{l}$ 进样,以峰面积对进样浓度($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)进行线性回归,分别得线性回归方程:

$$Y_{\text{阿魏酸}}=4.426\times 10^5X-2.858\times 10^4(r=0.9989);$$

$$Y_{\text{异阿魏酸}}=5.057\times 10^4X+4.291\times 10^4(r=0.9998)。$$

表明阿魏酸在 $2.31\sim 36.96\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$,异阿魏酸在 $8.09\sim 129.44\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 范围内,线性关系良好。

1.2.4 仪器精密度试验 取FA($9.24\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)、IA对照品溶液($32.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$),连续进样6次,每次 $5\text{ }\mu\text{l}$ 。FA峰面积的 $RSD=0.93\%$,IA峰面积的 $RSD=0.73\%$,表明进样精密度良好。

1.2.5 重复性试验 精密称取6份柳茶药材粉末,每份约 0.25 g ,按“1.2.2”项制备供试品溶液,进样。测得FA的平均含量为 $0.3037\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $RSD=2.08\%$;IA的平均含量为 $0.9594\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $RSD=1.96\%$,表明分析方法精密度良好。

1.2.6 稳定性试验 精密吸取柳茶供试品溶液,分别于配制后 0 、 1 、 2 、 4 、 6 、 8 h 进样,测定FA、IA峰面积,其 RSD 分别为 1.65% 、 1.32% ,表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

1.2.7 回收率试验 精密称取3份柳茶药材粉末,每份约 0.25 g ,分别加入不同浓度的FA、IA对照品溶液,再按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定各成分的含量,并计算。FA和IA的平均回收率分别为 98.16% 和 98.58% , RSD 分别为 0.49% 和 0.70% ($n=3$)。

1.2.8 样品的测定 精密称取3批柳茶粉末各3份,每份约 0.25 g 。按“1.2.2”项下方法和“1.2.1”项的条件,分别取供试品溶液和对照品溶液,进样 $5\text{ }\mu\text{l}$ 。外标法计算含量。3批样品中FA的平均含量分别为 0.304 、 0.299 、 $0.307\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,IA的平均含量分别为 0.967 、 0.952 、 $0.959\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2 讨论

阿魏酸、异阿魏酸均为有机酚酸类化合物,在植物体内往往以游离和盐两种形式存在,故在提取溶剂中加入甲酸,使其提取更加完全。在流动相中加入磷酸可以抑制其电离,使峰形稳定,分离度良好^[3]。文中采用RP-HPLC测定柳茶中阿魏酸和异阿魏酸,方法稳定、简单可行,可作为藏药柳茶及其成药质量控制的有效方法。

参考文献:

- [1] 汪晓立,杨兵勋.柳茶对 CCl_4 肝损伤的保护作用及机理初探[J].中国中药杂志,1995,20(12):746-748.
- [2] 刘蓉梅,黄罗生.高效液相色谱法测定当归中阿魏酸含量方法的探讨[J].东南大学学报(医学版),2003,22(2):98-101.
- [3] 潘瑞乐,陈迪华,沈连刚,等.高效液相色谱法测定中药升麻中阿魏酸和异阿魏酸的含量[J].药物分析杂志,2000,20(6):396-398.

收稿日期:2005-09

HPLC 测定克班宁注射液中原料药的有关物质

马云淑,张壮丽,周发平

(云南中医学院中药学院,云南昆明650200)

摘要: 目的 分析克班宁注射液原料药中的有关物质。方法 应用HPLC法测定不同来源的10批克班宁原料药样品。采用Zirchrom ODS柱($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$),以流动相A和B作梯度洗脱[A为甲醇-水- 10% 三乙胺($50:50:0.5$),B为甲醇- 10% 三乙胺($100:0.5$)];流速 $1.0\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 282 nm ,分析时间 45 min 。结果 10批原料药中有两个有关物质共有峰,其中5批有6个有关物质共有峰,有关物质峰占总峰面积的 $3.04\%\sim 23.94\%$ 。结论 所建分析方法灵敏、重复性好,为克班宁原料药的质量控制提供了依据。

关键词: 克班宁;原料药;有关物质;高效液相色谱法

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-0103(2006)02-0197-03

基金项目:云南省自然科学基金重点项目(项目批准号:2002C0006Z)

作者简介:马云淑(1966-),女,云南文山,硕士,副教授,从事中药新制剂研究。E-mail:yunshuma2@126.com