

微波协助提取在中药材含量测定中的应用(2) ——微波法与药典法测定白芷中欧前胡素含量比较

方婧,付梅红*,杨洪军,张贝贝,王祝举,杨岚,张东
(中国中医科学院 中药研究所,北京 100700)

[摘要] 目的:比较微波协助提取法与药典法提取欧前胡素优势。方法:采用 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(55:45),检测波长 300 nm,柱温 30℃,流速 1 mL·min⁻¹。结果:微波提取时间 10 min,提取温度 80℃,提取溶剂乙醇。欧前胡素在 0.01~0.2 μg 呈良好线性关系($r=0.999\ 9$)。平均回收率 97.48%($n=6$)。结论:微波提取法较药典法提取欧前胡素更简便快速、结果准确,为一种符合环保绿色理念的含量测定方法,可用于检测白芷药材中有效成分欧前胡素含量。

[关键词] 微波提取;白芷;欧前胡素;含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0089-03

Determination of Microwave-assisted Extraction of Chinese Herbs (2) Comparison of Determination of Imperatorin from *Angelica dahurica* between Microwave-assisted Extraction and Chinese Pharmacopeia Method

FANG Jing, FU Mei-hong*, YANG Hong-jun, ZHANG Bei-bei, WANG Zhu-ju, YANG Lan, ZHANG Dong
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a microwave-assisted extraction method for the extraction of imperatorin from *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.). Comparison of the determination of imperatorin from *A. dahurica* between microwave-assisted extraction and Chinese pharmacopeia method was carried out. **Method:** Dikma Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol-water (55:45). The temperature of column was at 30℃. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was at 300 nm. **Result:** Microwave extractive time was 10 min, the temperature was at 80℃, the extraction solvent was ethanol. The calibration curve was linear in the range from 0.01 to 0.2 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 97.48% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, rapid, as well as precise and reliable, and can be used for the determination of imperatorin from *A. dahurica*.

[Key words] microwave-assisted extraction; *Angelica dahurica*; imperatorin; determination

白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根。其功能主治为解表散寒,祛风止痛,宣通鼻窍,燥湿止带,消肿排脓;用于感冒头痛,眉棱骨痛,鼻塞流涕,鼻渊,牙痛,带下等症^[1]。《中国药典》(2010年版一部)白芷项下,供试品溶液的制备方法为取白芷粉末约

[收稿日期] 20110325(010)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003);国家科技支撑计划课题(2006BAI09B07-02)

[第一作者] 方婧,技师,从事中药化学成分与质量评价研究, Tel: 010-64062692

[通讯作者] *付梅红,研究员,从事中药化学与质量评价研究, Tel: 010-64062692

0.4 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇 45 mL, 超声处理 1 h。而微波提取法由于微波特性使其具有大幅度缩短提取时间, 同时可提高化合物提取率, 因此为一种简便快速、符合低碳、环保绿色理念的提取方法。我们在完成白芷药材中有效成分欧前胡素微波提取方法学基础上, 建立了欧前胡素微波提取含量测定法, 并对购自北京同仁堂、永安堂、杭州等 5 个不同产地白芷药材的微波提取法与《中国药典》的欧前胡素的含量进行了比较。

1 仪器与试药

微波消解仪购自上海新仪微波化学科技有限公司(型号 MDS-6), 安捷伦高效液相色谱仪(Agilent 1200), 欧前胡素购自南京泽朗医药科技有限公司(纯度 $\geq 99.8\%$), 甲醇为色谱纯(Fisher), 乙腈为色谱纯(Fisher), 水为重蒸馏水。

白芷药材购自北京同仁堂、永安堂、京芝堂、河南、杭州, 采购日期 2010 年 9 月~12 月, 经本所何希荣鉴定为伞形科植物杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根。

2 方法与结果

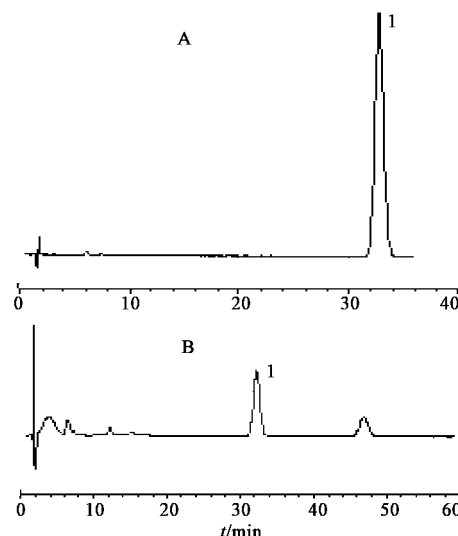
2.1 供试品溶液的制备 取白芷药材样品, 粉碎(过 60 目筛), 精密称定约 0.2 g, 置微波提取罐中, 精密加入无水乙醇 25 mL, 称定质量, 微波协助萃取 5 min 内升温至 80 $^{\circ}\text{C}$, 保温 5 min, 取出, 冷却至室温, 再精密称定, 用无水乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2 对照品溶液的制备 取欧前胡素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 摇匀, 即得。

2.3 色谱条件 Dikma Diamonsil C_{18} 色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm 5 μm), 流动相甲醇-水(55:45), 检测波长 300 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 见图 1。

2.4 检测限及定量限 取对照品储备液逐级稀释后, 按 2.3 色谱条件进行测定。按 3 倍信噪比计算($S/N=3$) 欧前胡素的检测限为 4.08 ng, 按 10 倍信噪比计算($S/N=10$) 欧前胡素的定量限为 15.5 ng。

2.5 线性关系考察 精密称取欧前胡素对照品适量, 分别配成质量浓度为 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液, 按 2.3 色谱条件进行测定, 得回归方程为 $Y = 2797119.479X - 8782.742$ ($r = 0.9999$), 表明欧前胡素在 0.01 ~



A. 对照品图; B. 供试品图; 1. 欧前胡素

图 1 白芷药材 HPLC

0.2 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度考察 精密吸取同一对照品溶液 20 μL , 在 2.3 色谱条件下进行测定, 测得欧前胡素峰面积 RSD 0.27% ($n=6$), 表明精密度良好。

2.7 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液 20 μL , 分别间隔 0, 2, 4, 6, 8, 20, 24 h, 在 2.3 色谱条件下进行测定, 测得欧前胡素峰面积 RSD 为 0.48%, 表明在 24 h 内样品稳定性良好。

2.8 重复性考察 取同一批次本品粉末(过 60 目筛) 6 份, 精密称定, 分别按 2.1 供试品溶液的制备项下制备, 分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 按 2.3 色谱条件进行测定并计算欧前胡素含量, RSD 1.93% ($n=6$), 表明此法重复性良好。

2.9 回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量的白芷药材粉末约 0.1 g, 精密称定 6 份, 分别精密加入 0.098 mg 的欧前胡素对照品, 再按 2.1 供试品溶液的制备项下制备, 按 2.3 色谱条件进行测定, 测得平均回收率为 97.48% ($n=6$), RSD 1.07%, 结果见表 1。

2.10 样品测定 取购自同仁堂、永安堂、京芝堂、河南、杭州的白芷样品, 按 2.1 供试品溶液的制备项下制备, 按 2.3 色谱条件进行测定, 计算欧前胡素的质量分数, 见表 2。

3 微波提取法与药典法测定白芷中欧前胡素含量的比较

分别取购自北京同仁堂、永安堂、京芝堂、河南、杭州的白芷药材, 按《中国药典》(2010 年版一部) 白

表1 白芷中欧前胡素加样回收率

称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.101 0	0.104 0	0.098	0.200 2	98.16	97.48	1.07
0.101 2	0.104 2	0.098	0.199 9	97.65		
0.100 6	0.103 6	0.098	0.199 4	97.76		
0.100 5	0.103 5	0.098	0.197 0	95.41		
0.100 5	0.103 5	0.098	0.199 8	98.26		
0.100 8	0.103 8	0.098	0.199 5	97.65		

表2 2种方法提取白芷中欧前胡素的质量分数 %

样品	微波提取	药典法
同仁堂	0.042	0.021
永安堂	0.028	0.023
京芝堂	0.059	0.028
河南产白芷	0.084	0.036
杭州产白芷	0.106	0.107

芷项下供试品溶液制备,按2.3色谱条件进行测定,计算欧前胡素的质量分数,结果见表2。

从测定结果可知,微波提取法比药典中提取法大幅度缩短了提取时间,由超声1 h缩短为微波提取10 min,因此微波提取法可用于白芷中欧前胡素的含量测定更快捷、更节能。

4 讨论

作者考察了以水、50%乙醇、无水乙醇为提取溶剂提取白芷药材,测定欧前胡素质量分数,测得无水乙醇提取率最高,因此选定提取溶剂为无水乙醇。

作者考察了80、100、120℃的不同微波提取温度提取白芷药材,测定欧前胡素质量分数,测得在提取温度为80℃时已提取完全,因此选定微波提取温度为80℃。

作者考察了加热至80℃后分别保温0.5、10、15

min的不同保温时间,测定欧前胡素质量分数,测得在保温5 min后已提取完全,因此选定保温时间为5 min。

目前尚无白芷中有效成分欧前胡素微波提取法与传统药典法含量测定比较研究,因此我们在完成了微波最佳提取条件的基础上,比较了不同产地微波提取法与药典法测定白芷药材中欧前胡素含量。结果显示,微波提取法较药典提取法提取欧前胡素提取率高,而微波提取所用时间只有10 min,小于药典中超声1 h时,因此说明微波提取法用于白芷药材中欧前胡素的含量测定,是一种更的快速、简便而稳定的方法,也是符合低碳、环保绿色理念的提取方法。

同时不同产地白芷药材中其欧前胡素含量微波法与药典法测定结果因药材产地不同,存在明显差异,不呈规律性,其原因有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:97.
- [2] 李作平,张嫚丽,詹文红.微波萃取技术在中药有效成分提取中的应用[J].时珍国医国药,2004,15(1):55.

[责任编辑 蔡仲德]