

# HPLC测定葶苈降血脂胶囊中熊果酸的含量

王威,李红岩,张慧丽,王艳艳(吉林省中医中药研究院,长春 130021)

**摘要:**目的 建立高效液相色谱法测定葶苈降血脂胶囊中熊果酸的含量。方法 采用 Diamonsil ODS 色谱柱;流动相为乙腈-甲醇-水(65:10:25,每 100 mL 加乙酸铵 0.5 g);检测波长为 220 nm。结果 熊果酸进样量在 1.592~7.960  $\mu\text{g}$  内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.9999$ );平均加样回收率为 99.80% ( $RSD=1.89\%$ ,  $n=6$ )。结论 方法简便、准确,可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词:**熊果酸;葶苈降血脂胶囊;高效液相色谱法

中图分类号:R17.77;R917.101 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2008)04-0331-03

## Determination of Ursolic Acid in Tingli Jiangxuezhishi Capsules by HPLC

WANG Wei, LI Hong-yan, ZHANG Hui-li, WANG Yan-yan (Jilin Province Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of ursolic acid in Tingli Jiangxuezhishi capsules. **METHODS** The Diamonsil ODS column was used as the stationary phase with the mobile phase of acetonitrile-methanol-water (65:10:25, ammonium acetate 0.5 g · 100 mL<sup>-1</sup>). The detection wavelength was 220 nm. **RESULTS** The linear range of ursolic acid was 1.592~7.960  $\mu\text{g}$  with the correlation coefficient 0.9999 between the injection quantity and the peak area. The average recovery was 99.80% with the RSD of 1.89% ( $n=6$ ). **CONCLUSION** The method is convenient and accurate. It can be used for the quality control of ursolic acid in Tingli Jiangxuezhishi capsules.

**KEY WORDS:** ursolic acid; Tingli Jiangxuezhishi capsules; HPLC

葶苈降血脂胶囊是由葶苈子、山楂、茵陈、黄芩等 7 味中药组成的复方制剂。具有宣通导滞,通络散结,消痰渗湿。用于痰湿证引起的眩晕、四肢沉重、神疲少气、肢麻、胸闷、舌苔黄腻或白腻等症,临床见于高脂血症。熊果酸是山楂的活性成分,具有降血脂和抗氧化作用<sup>[1]</sup>。原标准采用薄层扫描法测定熊果酸的含量,误差大、重复性差,且未将熊果酸和齐墩果酸分离,实际上测定的是两者的总含量。为了更好地控制制剂质量,本实验建立高效液相色谱法测定葶苈降血脂胶囊中熊果酸的含量,选择优化了提取方法和色谱条件,为该制剂的质量控制提供科学依据。

### 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATvp 溶剂输液泵,LC-10Avp 紫外检测器;日本岛津 2550UV 紫外分光光度计;德国赛多利斯 BP211D 分析天平。色谱柱 Diamonsil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),北京迪科马科学仪器有限公司;Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),大连依利特科学仪器有限公司;TSK gel ODS-80T<sub>M</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),日本东洋株式会社。熊果酸对照品,批号:110742-200516,中国药品生物制品检定所提供。葶苈降血脂胶囊,通化金汇药业股份有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯,美国 FISHER 公司;水为重蒸水;其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

Diamonsil ODS 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-甲醇-水(65:10:25,每 100 mL 加乙酸铵 0.5 g);检测波长:220 nm;流速:0.7 mL · min<sup>-1</sup>。

#### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取熊果酸对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 159.2  $\mu\text{g}$  的溶液,即得。

#### 2.3 供试品溶液的制备

取葶苈降血脂胶囊内容物 8 g,混匀,取约 5 g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚适量,加热回流 4 h,提取液挥干,残渣用石油醚(30~60)浸泡 3 次,每次 30 mL (浸泡约 30 min),倾去石油醚(30~60)液,残渣加甲醇溶解,滤过,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

#### 2.4 阴性对照溶液的制备

按处方制备方法制备缺山楂药材的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

#### 2.5 专属性试验

分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件进样,结果供试品色谱中,在与熊果酸对照品色谱相同的保留时间处有色谱峰,与其他组分能

作者简介:王威,男,药学博士,副主任药师 Tel: (0431) 86816224 E-mail: w. wangwei@263.net

基本达到基线分离,  $R > 1.5$ ; 阴性对照色谱中, 在与熊果酸对照品色谱峰相同的保留时间处无色谱峰, 见图 1。

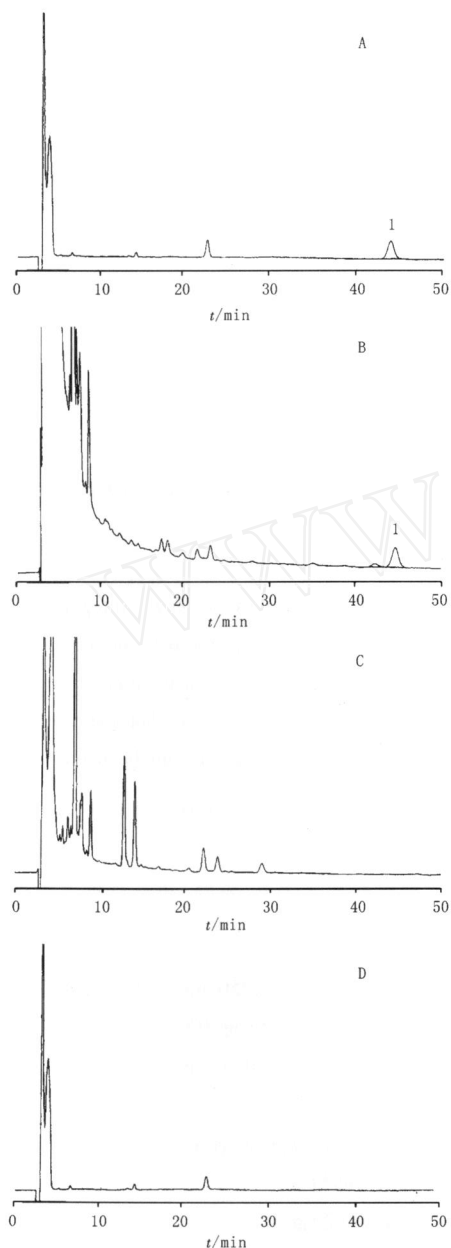


图 1 熊果酸对照品 (A)、葶苈降血脂胶囊 (B)、阴性对照 (C) 和溶剂 (D) HPLC 色谱图

1 - 熊果酸

Fig 1 HPLC Chromatograms of ursolic acid reference substance (A), Tingli Jiangxuezhishi capsules (B), negative sample (C), and solvent (D)

1 - ursolic acid

## 2.6 线性关系考察

精密称取熊果酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 796  $\mu\text{g}$  的溶液, 精密吸取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置 2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。分别精密吸取各 20  $\mu\text{L}$  按上述色谱条件进样, 测定峰面积积分值。以峰面积积分值为纵坐标, 熊果酸对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 81.619.9X - 5.244.9$ ,  $r = 0.999.9$ , 结果表明熊果酸

进样量在 1.592 ~ 7.960  $\mu\text{g}$  内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

## 2.7 稳定性试验

精密吸取同一葶苈降血脂胶囊供试品溶液, 分别在 0, 4, 8, 24, 30 h 按上述色谱条件进样 20  $\mu\text{L}$ , 测定熊果酸峰面积积分值, 计算得其 RSD 为 1.46%, 表明供试品溶液在 30 h 内基本稳定。

## 2.8 重复进样精密度试验

精密吸取同一葶苈降血脂胶囊供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件连续进样 6 次, 测定熊果酸峰面积积分值, 计算得其 RSD 为 1.98%。

## 2.9 重复性试验

取同一批号葶苈降血脂胶囊 (批号: 20050401) 6 份, 按样品测定方法进行测定, 计算得熊果酸的平均含量为 176.10  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 为 2.44%。

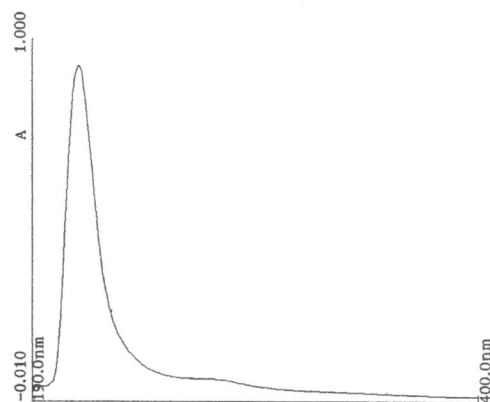


图 2 熊果酸紫外吸收图谱

Fig 2 UV absorption spectrum of ursolic acid

## 2.10 回收率试验

取同一批号葶苈降血脂胶囊 (批号: 20050401) 6 份, 每份 2.5 g, 精密加入熊果酸对照品溶液 3 mL, 挥干溶剂, 按样品测定方法进行测定, 计算得熊果酸的回收率为 99.80%, RSD 为 1.89%。

## 2.11 样品测定

取 10 个批号葶苈降血脂胶囊, 制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件进样测定, 外标一点法计算熊果酸的含量, 结果见表 1。

表 1 葶苈降血脂胶囊中熊果酸含量测定结果

Tab 1 Determination results of ursolic acid in Tingli Jiangxuezhishi capsules

批号	熊果酸含量 / $\mu\text{g} \cdot \text{粒}^{-1}$	批号	熊果酸含量 / $\mu\text{g} \cdot \text{粒}^{-1}$
20050101	53.19	20050801	65.06
20050201	71.81	20051101	52.30
20050301	48.94	20060301	73.50
20050601	48.29	20060401	71.80
20050701	48.32	20060901	46.94

## 3 讨论

3.1 熊果酸属于三萜酸, 在天然植物中与齐墩果酸共存, 为

一对同分异构体,结构极为相似,极性差异极小。含量测定方法主要有薄层扫描法<sup>[2]</sup>和高效液相色谱法<sup>[3-4]</sup>,薄层扫描法经硫酸显色后进行定量,但熊果酸和齐墩果酸在薄层板上不易分离,实际上测定的是二者的总含量,且操作繁琐,重复性差。采用本实验中的高效液相色谱法成功地分离熊果酸和齐墩果酸,由于葶苈降血脂胶囊中齐墩果酸的含量低,故仅以熊果酸为指标进行含量测定。

### 3.2 测定波长的选择

取熊果酸对照品溶液,在200~400 nm波长范围内进行扫描,结果在208 nm波长处有最大吸收,在此波长处测定流动相基线噪音大。为减少流动相基线噪音,文献采用210 nm<sup>[3]</sup>,215 nm<sup>[5]</sup>,220 nm<sup>[6]</sup>作为检测波长,经多次试验结果表明220 nm基线噪音小,故选择220 nm作为熊果酸的测定波长。

### 3.3 流动相和色谱柱的选择

试验比较了流动相乙腈-甲醇-水(65:10:25,每100 mL加乙酸铵0.5 g)、甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(83:17:0.04:0.02)、乙腈-0.2%磷酸溶液(80:20),结果表明以乙腈-甲醇-水作为流动相可使熊果酸和齐墩果酸基本达到基线分离。试验比较了色谱柱 Diamonsil ODS、Hypersil ODS、TSK gel ODS-80T<sub>M</sub>的分离效果,结果表明对色谱柱有一定的选择性,以 Diamonsil ODS色谱柱峰形最佳,分离度好,柱效高。

### 3.4 提取溶剂的选择

根据熊果酸的性质,在制备供试品溶液的过程中,比较了采用乙醚、三氯甲烷、乙酸乙酯提取,结果表明以乙醚作为

提取溶剂提取效果好。

3.5 采用高效液相色谱法测定葶苈降血脂胶囊中熊果酸的含量方法可行,线性关系、稳定性、精密性、重复性、回收率试验良好,可作为的葶苈降血脂胶囊质量控制方法。

## REFERENCES

- [1] L I G H, S U N J Y, Z H A N G X L, *et al* Experimental studies on antihyperlipidemia effects of two compositions from hawthorn in mice[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2002, 33(1): 50-52
- [2] M A J, L A N G W, L I X W. Detemination of ursolic acid in Crataegus Pinnatifida[J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药), 2005, 18(4): 235-236
- [3] D O N G L P, L U C L, L V F L, *et al* Detemination of ursolic acid in Crataegus Pinnatifida by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(8): 1 207-1 208
- [4] X I E Y, W U C H, X I E B J. Detemination of ursolic acid and oleanolic acid in Crataegus Pinnatifida by HPLC-ELSD[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2004, 35(12): 1 417-1 418
- [5] C U I J, C H E N Y Y, Z H E N G C H, *et al* Detemination of oleanolic acid and ursolic acid in Fructus Ligustri lucidi and Zhenqiliyan granules by HPLC[J]. Chin J Pham(中国医药工业杂志), 2006, 37(7): 496-497
- [6] Z A I H Y, S H E N Y H, S I Y S, *et al* HPLC detemination of ursolic acid in Shenzhalingjiangzhi tablets[J]. Chin J Pham Anal(药物分析杂志), 2005, 25(2): 237-238

收稿日期:2007-06-21

## 小波变换方法测定复方苯甲酸酐的含量

项迎春, 祁建伟 (浙江医院, 杭州 310013)

**摘要:**目的 测定苯甲酸和水杨酸的含量。方法 采用最大吸收波长法测定水杨酸的含量。用紫外分光光度法测定苯甲酸的对照液和混合液的吸收光谱,并对紫外吸收光谱进行连续小波变换,提取只与苯甲酸有关的特征小波系数的方法测定苯甲酸的含量。结果 水杨酸的线性范围为 $5 \sim 30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.9998$ ),苯甲酸的线性范围 $10 \sim 60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.9999$ )。水杨酸、苯甲酸的回收率和RSD分别为99.36%,1.02%;99.09%,1.67%。结论 本法与传统方法相比,要求条件较低,不需要物理化学分离,分析速度快,精确度较高,适用于该制剂的含量测定。

**关键词:**小波变换;苯甲酸;水杨酸;含量测定

中图分类号:R917.72;R917.102

文献标识码:B

文章编号:1007-7693(2008)04-0333-04

## Determination of Compound Benzoic Acid Tincture by Wavelet Transform

X I A N G Y i n g - c h u n, Q I J i a n - w e i (Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To find a better method to determine the content of compound Benzoic acid tincture **METHODS** Maximal wavelength was used to determine the content of salicylic acid The absorption spectrum of benzoic acid standard and that of

作者简介:项迎春,女,主管药师 Tel:(0571)88967881-6120 E-mail:xych208@126.com