

反相高效液相色谱法对不同产地川芎中阿魏酸的测定

王 芳 匡维华¹(广东江门 529070 江门市中心医院药剂科; ¹ 江门 529000 广东江门出入境检验检疫局)

摘要 目的:对中药川芎中阿魏酸的含量分析进行方法学研究,并测定川芎的不同产地、不同品种的阿魏酸的含量。方法:采用 RP-HPLC 技术对 5 个品种 15 个样品进行测定。流动相为甲醇-水-36%乙酸(30:67:3),流速为 1.0 ml/min。UV 检测波长 322 nm。结果:本方法测定阿魏酸在 4.016~20.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内呈良好的线性关系,回归方程为 $A = 2.21199C - 1936.16$ ($r = 0.9999$)。阿魏酸的平均回收率 \pm RSD 为 99.90% \pm 5.12% ($n = 3$)。不同产地、不同品种的川芎其阿魏酸的含量为 0.6530~1.3271 mg/g。结论:川芎由于产地不同其阿魏酸的含量相差悬殊。以四川川芎中阿魏酸的含量为最高。本测定为筛选优良品种提供了简便易行的方法。

关键词 川芎;阿魏酸;HPLC;含量测定

RP-HPLC Determination of Ferulic acid of Ligusticum chuanxiong Hort from Different Areas

Wang Fang(Wang F) , Kuang Weihua(Kuang WH) (*Department of Pharmacy , Jiangmen Central Hospital , Jiangmen , Guangdong , 529070*)

ABSTRACT OBJECTIVE: The methodology of quantitative analysis of ferulic acid in Chinese herb Ligusticum Chuanxiong Hort was investigated and the content of Ferulic Acid of Ligusticum Chuanxiong Hort in different parts , different variety was also measured . **METHOD:** The 15 samples in five variety of Ligusticum Chuanxiong Hort were measured with RP-HPLC technique . The mobile phase was methanol-water-36 % acetic acid (30 :67 :3) and flow rate was 1.0 ml/min . The wavelength of UV for the analysis was 322 nm . **RESULTS:** The method was linear within the range of 4.016 to 20.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ $A = 2.21199C - 1936.16$ ($r = 0.9999$) . The average recovery of ferulic acid was 99.90% (RSD = 5.12% , $n = 3$) . The content of ferulic acid in different parts and different variety were 0.6530~1.3271 mg/g . **CONCLUSION:** The content of ferulic acid was obviously variable in different variety of Ligusticus Chuanxiong Hort . This quantitative measurement method is an easy way to select good variety .

KEY WORDS Ligusticum Chuanxiong Hort , Ferulic acid , RP-HPLC , content measurement

川芎系伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong Hort*)的根茎。生药质量因产地而异,以四川灌县所产为最佳,故惯称川芎。川芎的根茎中含挥发油、生物碱、酚性成份、内酯类和阿魏酸^[1]。阿魏酸是川芎的有效成份之一,具有明显的增加冠脉血流量,改善心肌缺血,抑制血小板聚集和凝血作用。临床上对冠心病、血栓闭塞性脉管炎和缺血性脑血管病等有效^[2]。为了对不同产地川芎质量提供较为科学的依据,我们采用高效液相色谱法测定了四川川芎、日本川芎、东北平顶山川芎和东盛川芎中阿魏酸的含量,并参考有关文献对分析条件及影响因素进行了较充分的讨论^[3-5]。

1 仪器及试剂

美国安捷伦 1100 高效液相色谱,配有安捷伦液相化学

工作站;日本岛津 UV-2201 型分光光度计。

阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供;四川川芎、日本川芎、东北平顶山川芎、东盛川芎由江门市药材公司提供,经本市药检所鉴定为正品;水:二次蒸馏水;10%四丁基氢氧化铵水溶液 TBAH:分析纯;其他试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: ODS C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm); 预柱: ODS C_{18} 柱(45 mm \times 4.6 mm); 流动相: 甲醇-水-36%乙酸(30:67:3); 流速: 1 ml/min ; 检测波长 322 nm ; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; ATEN = 3 ; 进样体积 10 μL 。在此色谱条件下,阿魏酸色谱峰峰形对称,供试品色谱图中阿魏酸峰能与其他成分很好分离。(见图 1 及图 2)

3 供试品溶液制备

精密称取川芎粉末 0.8g 置锥形瓶中,加流动相 60 ml,超声振荡提取 3h,静置数分钟后,提取液用离心管离心,上清液倾入 100 ml 容量瓶中,残渣用流动相洗涤,用上法离心两次,合并提取液及洗涤液,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

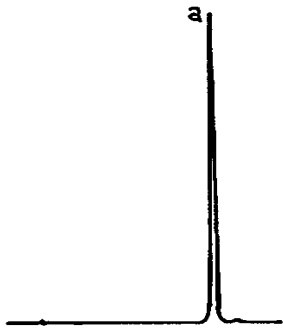


图 1 阿魏酸标准品色谱图(a 峰为阿魏酸)

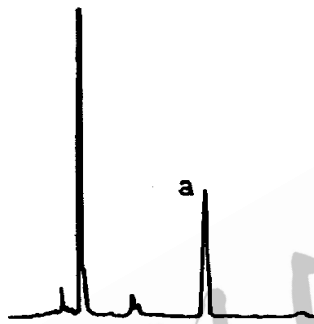


图 2 样品色谱图(a 峰为阿魏酸)

4 方法可行性研究

4.1 标准曲线及线性范围

精密称取阿魏酸标准品约 50 mg,加甲醇少量使溶解,加水定容为 100 ml,精密量取 20 ml 置 100 ml 棕色量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得 0.1 mg/ml 的对照品储备液。分别吸取该溶液 0.4 0.8 1.2 1.6 2.0 ml,置 10 ml 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,各浓度分别测定 3 次,以浓度对峰面积进行线性回归,得回归方程为: $A = 2.2119C - 1936.16$, $r = 0.9999$ 。结果表明,在浓度为 4.016 ~ 20.08 μ g/ml 范围内,线性关系良好。

4.2 样品提取条件考察

通过对样品的提取溶剂,时间和方法进行了详细研究。结果发现,照供试品溶液制备项下的方法,测得的样品中阿魏酸含量最高且稳定,故选择上述条件作为供试品溶液的制备方法。

4.3 加样回收率的测定

精密称取已知阿魏酸含量的四川川芎约 0.45g,加入阿魏酸对照品适量,按供试品溶液制备方法制备并进行测定,每份平行测定 3 次,共测 9 份样品,计算加样回收率为 99.90%,RSD 为 5.12%。

5 样品的测定

精密称取川芎粉末 0.8g,按供试品溶液制备方法制备并进行测定。测定结果见表 1。

表 1 不同产地川芎中阿魏酸的含量(mg/g)(n=3)

样品	四川川芎	日本川芎 I	日本川芎 II	东盛川芎	平顶山川芎
含量	1.3271	0.7360	0.9507	0.6530	1.0091

6 结果与讨论

6.1 据文献记载,川芎主产四川,其产量大,品质优,多为栽培品。此外,湖北,湖南,江西等地还栽培一种茶芎,又称抚芎,为川芎的栽培变种,但产量较小,一般自产自销。另外,吉林延边尚有一种东川芎,由日本引种,系朝鲜族民族药,产量很少^[6]。本实验采用 RP-HPLC 技术对不同产地川芎中阿魏酸的含量进行了比较研究。为探求高质量的川芎产地,筛选优良品种和扩大药源提供了简便易行的方法。

6.2 实验结果表明,不同产地的川芎中阿魏酸的含量相差是十分悬殊的,以四川川芎中阿魏酸的含量为最高,其次为平顶山川芎,而东盛川芎的含量最低。

6.3 我们曾采用离子对色谱法,以 10% TBAH 10 ml,加水 300 ml 稀释配成 TBAH 稀释液,再按甲醇:TBAH 稀释液 = 60:40 比例配流动相,用磷酸调 PH 为 6.5 测定冠元颗粒中阿魏酸的含量,样品峰无法分开。本实验系采用水-甲醇系统作为流动相的反相高效液相色谱法,方法简便易行,结果准确。

6.4 阿魏酸的不稳定性:

阿魏酸标准溶液不稳定,随着时间增长,色谱中杂质峰明显增高,这是由于阿魏酸对光线和温度的不稳定所致^[7]。故采取降低柱温到室温。同时发现不同溶剂对样品分解有明显的影响,在甲醇中分解较快,而采用甲醇溶解加水定容,分解较慢。

6.5 阿魏酸的 HPLC:

样品峰有时有下掉,拖尾等现象,产生这种现象的原因与(1)预柱,(2)分析柱,(3)流动相的 PH 值,(4)流动相中甲醇的比例,(5)流动相中水的比例有关。加入异丙醇作为流动相,结果都不理想。最后考虑到可能是波长的问題,证明波长为 322nm 时,峰形好,且峰面积高。

参考文献

- 1 江苏新医学院.中药大辞典.第 2 版.上海:科学技术出版社,1988:220.
- 2 季宇彬,等.中药有效成分药理与应用.哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1994:197.
- 3 尤卫民.高效液相色谱法测定产复康冲剂中阿魏酸的含量.中成药,1996,18(8):12.
- 4 姜华.高效液相色谱法测定浓当归注射液中的阿魏酸的含量.甘肃中医学院学报,1995,12(4):45.
- 5 管玉珠.反相高效液相色谱法测定抗感颗粒剂中阿魏酸的含量.兰州医学院学报,1997,23(2):32.
- 6 孙火玉,任仁安,王成群,等.中药鉴定学.南京:江苏科学技术出版社,1994:94.
- 7 陶建生,谢树华,徐莲英.心脑血管胶囊中阿魏酸的定性鉴别与含量测定.中成药,1997,19(4):9.

收稿日期:2001-05-28