

反相高效液相色谱法测定 滇桂艾纳香中原儿茶酸的含量

谢培德, 桑 彤, 龚秀珍
(广西药品检验所, 广西南宁 530021)

[摘要] 目的:建立反相高效液相色谱法测定滇桂艾纳香中原儿茶酸的方法。方法:滇桂艾纳香水提液醋酸乙酯-乙醇(4:1)提取,薄层色谱分离,反相高效液相色谱法测定, μ bondapak C_{18} 色谱柱,流动相甲醇-水-冰醋酸(19:80:1),检测波长 260 nm。结果:进样量 3.31 ~ 41.8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$,线性关系良好($r=0.9999$),加样回收率为 98.05%, $RSD=1.94\%$ ($n=6$)。结论:该法为开发利用滇桂艾纳香提供依据。

[关键词] 反相高效液相色谱法;原儿茶酸;滇桂艾纳香

滇桂艾纳香为菊科植物滇桂艾纳香的干燥全草,主要产地广西西南部及广东西南部、云南西南至东南部。具有活血、止血、利水作用。用于经期提前,产后血崩,产后浮肿,不孕症,阴疮^[1]。植化研究表明本品含有原儿茶酸,现代药理实验表明^[2],原儿茶酸具有增加冠脉流量等生理活性,因此,测定原儿茶酸的含量,对控制本品的内在质量很有意义。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Spectra Physics Corporation 公司),200 型紫外检测器,4290 型积分仪,Sartorius 电子分析天平(德国),自动辅板器(CAMAG 公司)。甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯。

原儿茶酸对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 809-9201,纯度为 99.99%)。

生药样品于 1996 年 11 月至 1997 年 6 月,分别采自广西德保县、龙州县、靖西县、百色市,经本所黄燮才主任技师鉴定为菊科滇桂艾纳香 *Blumea riparia* (Bl.) DC. 的干燥全草。

1.2 色谱条件

μ bondapak C_{18} 10 μm , 4 mm \times 300 mm 色谱柱(中国科学院大连化学物理研究所)。流动相 甲醇-水-冰醋酸(19:80:1),流速 1.0 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 260 nm, AufS 2, ATTEN 32;柱温为室温。进样量 10 μl 。外标法峰面积定量(色谱图见图 1)。

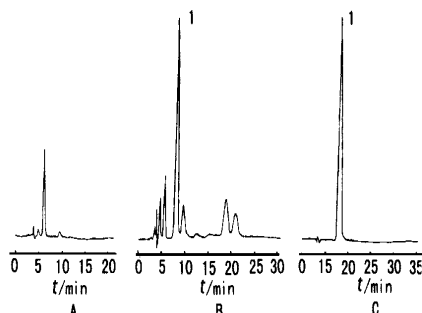


图 1 样品及对照品的 HPLC 图谱

A. 阴性对照 B. 样品 C. 对照品 1. 原儿茶酸

1.3 标准曲线的制备

精密称取原儿茶酸对照品 10.45 mg,置 250 ml 量瓶中,甲醇定容($41.8 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)。精密吸取 2, 5, 10, 15, 20, 25 ml,置 25 ml 量瓶中,甲醇定容。10 μl 进样,以原儿茶酸峰面积为自变量(X),以原儿茶酸对照品量为因变量(Y),回归方程为 $Y=9.7834 \times 10^{-6} X + 0.5538$,对照液在 3.3 ~ 41.8 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 线性关系良好($r=0.9999$, $n=6$)。

1.4 稳定性试验

供试品溶液在 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 h 测定,测定峰面积值结果为 1785534, 1774933, 1763496, 1782981, 1728173, 1764827, 1744275, 1761288, $RSD=1.1\%$,表明在 32 h 内基本稳定。

1.5 精密度试验

供试品溶液连续进样 6 次,结果为 62, 63, 64, 61, 60, 64 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $RSD=2.6\%$ ($n=6$)。

1.6 重现性实验

测定同批样品 5 份,结果为 62, 61, 60, 58, 60 μg

·g⁻¹, 平均含量为 60 μg·g⁻¹, RSD = 2.5% (n = 5)。

1.7 加样回收率试验

已知含量的滇桂艾纳香药材适量, 加入一定量的原儿茶酸, 测定结果见表 1。

表 1 原儿茶酸加样回收率测定结果

No.	样品量 μg	加入量 μg	测得量 μg	回收率 %	\bar{x} %	RSD %
1	816.8	313.2	1125.4	98.53	98.05	1.94
2	816.3	313.2	1115.7	95.59		
3	816.4	1252.8	2015.4	95.71		
4	816.4	1252.8	2064.8	99.65		
5	768.8	626.4	1389.5	99.09		
6	765.7	626.4	1390.5	99.74		

表 2 滇桂艾纳香含测结果 μg·g⁻¹

No.	来源	采收时间	含量
1	广西德保县 1 号	1996-11	156
2	广西德保县 2 号	1996-11	146
3	广西德保县 3 号	1996-12	92
4	广西德保县 4 号	1996-12	92
5	广西百色市	1996-12	96
6	广西龙州县	1997-01	84
7	广西德保县 5 号	1997-01	82
8	广西百色市	1997-01	84
9	广西百色市	1997-05	62
10	广西靖西市	1997-05	60
11	广西靖西市	1997-06	59
12	广西龙州县	1997-07	63

注: n = 2

1.8 样品的测定

本品粉末(通过 3 号筛)约 10 g, 精密称定, 置 400 ml 烧杯中, 加水 200 ml, 浸泡 30 min, 煎煮 1.5 h, 滤过, 药渣再加水煎煮 2 次(每次 200 ml), 煎煮 1.5 h, 滤液合并, 浓缩至 50 ml, 定量转移至 100 ml 量瓶中, 精密量取 20 ml 加稀盐酸 0.8 ml, 醋酸乙酯-乙醇(4:1)提取 4 次(25, 20, 15, 10 ml), 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇定量转移至 2 ml 量瓶中, 取 200 μl, 点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 随行点对照品

液(1 mg·ml⁻¹) 4 μl, 以苯-醋酸乙酯-甲酸(80:70:8) 避光展开, 紫外光灯 254 nm 下检视, 刮取与对照品相对应的条斑, 置 5 ml 具塞试管中, 精密加入 60% 乙醇 3 ml, 振摇 10 min, 离心, 取上清液为供试品溶液。进样 10 μl, HPLC 测定(见图 1)。测定了 12 批样品, 结果原儿茶酸含量在 59 ~ 156 μg·g⁻¹, 见表 2。

2 讨论与结果

2.1 本品水提取液醋酸乙酯-乙醇(4:1)提取后, 经 HPLC 分析, 在原儿茶酸峰后仍有大量杂质峰, 分析时间需 45 min, 而采用本法, 原儿茶酸峰与杂质峰的分离度大于 1.5, 分析时间 23 min, 且阴性溶液无干扰(见图 1)。本法可以提高分析的准确性, 缩短分析时间, 并可保护色谱柱。

2.2 实验结果证明, 薄层板避光展开比在自然光条件下展开所测得的原儿茶酸含量高; 薄层板挥去溶剂立即刮取条斑比薄层板在自然光下放置一定时间后刮取条斑所测得的原儿茶酸含量高, 而且, 在自然光下放置时间越长, 所测得的含量越低, 在自然光下放置 4 h, 含量可下降 30% ~ 40%, 但在避光条件下放置 4 h, 其含量与立即刮取条斑所测得的含量无显著性差异。故采用避光展开, 挥去溶剂后, 立即刮取条斑进行测定。

2.3 滇桂艾纳香中原儿茶酸含量在秋冬季比在夏季含量高。

[参考文献]

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准. 第二册. 1996. 274.
- [2] 江苏省植物研究所, 中国科学院昆明植物研究所, 中国医学科学院药用植物资源开发研究所, 等. 新华本草纲要. 第三册. 上海: 上海科学技术出版社, 1990. 95.
- [3] 张遵仪, 韩鹏飞, 梁满达, 等. 原儿茶酸衍生物的化学结构与冠脉流量、心肌耗氧量关系的探讨. 药学报, 1980, 15(11): 641.

Determination of Protocatechuic Acid in *Blumea riparia* (Bl.) DC. by RP-HPLC

XIE Pei de, SANG Tong, GONG Xiu-zhen

(Guangxi Provincial Institute for Drug Control, Nanning 530021, Guangxi, China)

[Abstract] Objective: To determine the content of protocatechuic acid in *Blumea riparia* by RP-HPLC. Method: μBondapak C₁₈ column was used, mobile phase consisted of methanol-water-glacial acetic acid(19:80:

第 25 卷第 4 期

2000 年 4 月

中国中药杂志

China Journal of Chinese Materia Medica

Vol .25 , No .4

Apr . , 2000

1) and detection was performed at UV 260 nm . **Result** : The standard curve was linear in the range of 3 . 31 ~ 41 . 8 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. The correlation coefficient was 0 . 9999 . The average recovery rate and *RSD* were 98 . 05 % and 1 . 94 % ($n = 6$) respectively . **Conclusion** : The method provides scientific indexes for quality control of riparia .

[**Key words**] RP- HPLC ; protocatechuic acid ; *Blumea riparia*

[责任编辑 徐美珍]