

重齿当归根中二种香豆素含量的 HPLC 法测定

陈为民 姚欣梅 张涵庆

(江苏省植物研究所, 南京 210014)
中国科学院

Determination of two coumarin contents in the root of *Angelica biserrata* by HPLC method CHEN Wei-min, YAO Xin-mei, ZHANG Han-qing, (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), *J. Plant Resour. & Environ.* 2000, 9(4): 51~52

Abstract: The contents of columbianetin acetate and columbianadin in roots of *Angelica biserrata* (Shan et Yuan) Yuan et Shan were determined by HPLC method. The results showed that the contents of columbianetin acetate and columbianadin are 0.21% and 0.72% respectively. This method is simple, rapid and accurate. It is provided a better method for the determination of two coumarins in this plants.

关键词: 重齿当归; 二氢欧山芹乙酸酯; 二氢欧山芹当归酸酯; HPLC

Key words: *Angelica biserrata* (Shan et Yuan) Yuan et Shan; columbianetin acetate; columbianadin; HPLC

中图分类号: R284.1; Q949.763.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2000)04-0051-02

重齿当归 [*Angelica biserrata* (Shan et Yuan) Yuan et Shan] 系中药独活原植物, 又名重齿毛当归, 是我国特产的常用中药, 有祛风、除湿、散寒、止痛等功效。四川、湖北、陕西等省都有栽培。野生重齿当归广泛分布于浙江、安徽、江西、四川等省, 仅在少数地区使用。近年来, 药理试验表明有抗血小板聚集和消炎作用。1993年张涵庆等曾对野生与栽培重齿当归进行了高效液相色谱的测定^[1]。本研究继续对其中2个香豆素成分二氢欧山芹乙酸酯 (columbianetin acetate) 及二氢欧山芹当归酸酯 (columbianadin) 进行 HPLC 法测定。

1 实验部分

1.1 样品采集

重齿当归 [*Angelica biserrata* (Shan et Yuan) Yuan et Shan] 根取自四川省万县, 干燥, 粉碎, 过 60 目筛备用。

1.2 仪器和试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, 配有 SPD-6AV 可变波长紫外检测器、C-R6A 数据处理机。

标准品二氢欧山芹乙酸酯和二氢欧山芹当归酸酯系江苏省·中国科学院植物研究所张涵庆研究员制备, 经 UV、IR、MS、HPLC 和 H-NMR 鉴定, 其纯度分别为 99.5% 和 98.70%。

甲醇 (色谱纯), 重蒸馏水。

1.3 色谱条件

色谱柱: Spherisorb ODS C18 (250mm × 4.6mm) 5 μm; 流动相 V (甲醇): V (水) = 70:30; 流速 0.60 mL/min; 压力 91 kg/cm²; 柱温 25℃; 检测波长 327 nm。

1.4 标准曲线绘制

1.4.1 线性关系及线性范围测定 精密称取标准品二氢欧山芹乙酸酯 2.40 mg, 二氢欧山芹当归酸酯 2.0 mg, 分别置于

5 mL 容量瓶中, 用甲醇定容备用。二氢欧山芹乙酸酯浓度为 0.48 μg/μL, 二氢欧山芹当归酸酯浓度为 0.40 μg/μL。按上述色谱条件, 用微量注射器精密吸取 2.5、5.0、7.5、10.0 和 12.5 μL 分别进样测定。以峰面积对标准品量作标准曲线, 其回归方程为:

二氢欧山芹乙酸酯:

$$Y = 225\ 159.1 X - 4\ 629 \quad r = 0.999\ 9$$

线性范围为 1.2~5.76 μg

二氢欧山芹当归酸酯:

$$Y = 1\ 588\ 737 X - 3\ 408.1 \quad r = 0.999\ 9$$

线性范围为 1.0~4.8 μg

1.4.2 精密度测定 精密吸取标准品 5 μL, 重复进样 5 次 (n=5), 各标准品峰面积的 RSD < 2%。

1.5 样品测定

1.5.1 样品提取方法 称取重齿当归干燥根粗粉 (60 目) 约 5.0 g 12 份, 置索氏提取器内, 分别用氯仿、乙酸和甲醇回流提取各 1、2、3 和 4 h。其结果以甲醇提取 3 h 为最好, 故选用甲醇作溶剂。

1.5.2 样品的测定 3 个批次的重齿当归干燥根粗粉 (60 目) 各称取约 5.0 g, 置索氏提取器内, 加甲醇 80 mL 回流 3 h, 回收提取液, 残留物用甲醇溶解定容于 50 mL 容量瓶中。按上述色谱条件进样 2.5 μL 进行测定, 测得峰面积, 代入回归方程计算 (结果见表 1)。重齿当归根中二氢欧山芹乙酸酯平均含量为 0.21%, 二氢欧山芹当归酸酯平均含量为 0.72%。

收稿日期: 1999-11-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39070247)

作者简介: 陈为民, 男, 1953 年 8 月生, 浙江宁波人, 大专, 高级实验师, 从事化学分析工作。

表1 重齿当归根中二氢欧山芹乙酸酯及二氢欧山芹当归酸酯含量
Table 1 The contents of columbianetin acetate and columbianadin in *Angelica biserrata* roots

批号 Batch number	样品重 Sample weight (g)	二氢欧山芹 乙酸酯含量 Content of columbianetin acetate (%)	二氢欧山芹 当归酸酯含量 Content of columbianadin (%)
981201	5.027 0	0.20	0.63
981202	5.027 5	0.18	0.79
981015	5.108 2	0.24	0.74
平均含量 Average content (%)		0.21	0.72

1.5.3 样品日内与日间稳定性实验 样品在同一天中间隔0.5、1、1.5、2.0、2.5和3.0 h 6次测定,结果表明测定稳定性好。二氢欧山芹乙酸酯的RSD=1.29%。二氢欧山芹当归酸酯的RSD=0.23%。

样品1999年9月29日,10月10、12、22和23日按同样方法测定,稳定性良好。二氢欧山芹乙酸酯的RSD=2.15%。二氢欧山芹当归酸酯的RSD=1.19%。

1.5.4 加样回收率实验 精密称取已知含量的同批号重齿当归粗粉,精密添加标准品,按样品测定方法提取和测定,计算回收率。二氢欧山芹乙酸酯平均回收率为102.1%,RSD=2.80%(见表2)。二氢欧山芹当归酸酯平均回收率102.8%,RSD=0.91%(见表3)。

表2 二氢欧山芹乙酸酯回收率测定

Table 2 Determination of recovery of columbianetin acetate in *Angelica biserrata* roots

编号 No.	样品中二氢欧山芹乙酸酯重 Weight of columbianetin acetate in samples (mg)	加入二氢欧山芹乙酸酯重 Weight of added columbianetin acetate (mg)	测得二氢欧山芹乙酸酯重 Weight of assayed columbianetin acetate (mg)	回收率 Recovery (%)
1	0.55	0.05	0.61	101.7
2	0.59	0.10	0.72	104.3
3	0.57	0.15	0.75	104.2
4	0.56	0.30	0.87	101.2
5	0.55	0.40	0.94	98.9
平均回收率 Average recovery (%)				102.1
RSD (%)				2.8

表3 二氢欧山芹当归酸酯回收率测定

Table 3 Determination of recovery of columbianadin in *Angelica biserrata* roots

编号 No.	样品中二氢欧山芹当归酸酯重 Weight of columbianadin in samples (mg)	加入二氢欧山芹当归酸酯重 Weight of added columbianadin (mg)	测得二氢欧山芹当归酸酯重 Weight of assayed columbianadin (mg)	回收率 Recovery (%)
1	0.49	0.19	0.70	102.9
2	0.48	0.29	0.80	103.9
3	0.48	0.38	0.87	102.3
4	0.48	0.48	0.99	103.1
5	0.47	0.58	1.07	101.9
平均回收率 Average recovery (%)				102.8
RSD (%)				0.91

2 小结与讨论

本文首次建立了重齿当归根中二氢欧山芹乙酸酯及二氢欧山芹当归酸酯含量的测定方法,应用反相高效液相色谱法,以甲醇:水为流动相,在一定的压力及检测波长 $\lambda=327$ nm的条件下,可使二氢欧山芹乙酸酯及二氢欧山芹当归酸酯良好分离。本方法具有微量、快速、准确和重现性好等特点,为中药标准化研究提供了科学依据。

参考文献

- [1] 张涵庆,陈为民,袁昌齐. 中国川独活与浙独活根香豆素成分比较研究[J]. 植物资源与环境,1993,2(4):60-62.
- [2] 中南矿冶学院分析化学教研室编著. 化学分析手册[M]. 北京:科学出版社,1987.

(责任编辑:惠红)