

高效毛细管区带电泳法测定克心疼缓释片中阿魏酸的含量

张 婷^{1,2}, 刘 珂^{2*}, 柳全文³

(1. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003;

3. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘 要:目的 建立高效毛细管区带电泳测定克心疼缓释片中阿魏酸的方法。方法 未涂层毛细管柱(80.5 cm×75 μm, 有效长度 72.5 cm), 运行电压 30 kV, 检测波长 200 nm, 操作温度 30 ℃, 正极压力进样 5 kPa×5 s, 运行缓冲液为 10 mmol/L pH 9.0 的硼砂溶液。结果 阿魏酸在 35.7~107.1 μg/mL 内线性关系良好, 回归方程为 $Y = 2.4819X - 3.7113$, $r = 0.9997$, 加样回收率为 98.4%, RSD 为 3.73% ($n = 5$)。结论 该方法方便快捷、灵敏度高、重现性好, 可用于克心疼缓释片的质量控制。

关键词: 克心疼缓释片; 阿魏酸; 高效毛细管区带电泳

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2005)04-0530-02

Determination of ferulic acid in Kexinteng Sustained-release Tablet by high efficiency capillary zone electrophoresis

ZHANG Ting^{1,2}, LIU Ke², LIU Quan-wen³

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Yantai 264003, China; 3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Key words: Kexinteng Sustained-release Tablet; ferulic acid; high efficiency capillary zone electrophoresis

克心疼缓释片是中药复方缓释制剂, 能有效地防治冠心病、心绞痛。方中含川芎、延胡索等中药, 其中川芎的主要活性成分为阿魏酸。阿魏酸测定方法主要有高效液相色谱法^[1,2]、毛细管电泳法^[3]。HPLC 法分离迅速, 成为主要的测定方法, 但峰展宽效应明显。毛细管电泳法是新方法, 以其微量、快速、简便而迅速发展。本实验采用毛细管区带电泳模式, 建立了分离测定克心疼缓释片中阿魏酸的方法。操作简便迅速, 为多组分同时测定建立了新的方法。

1 仪器与试剂

惠普 HP^{3D}CE 毛细管电泳仪, 二极管阵列检测器; 克心疼缓释片由山东中医药大学提供, 阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号: 0773-9607), 硼砂、甲醇、乙醚均为分析纯, 水为二次蒸馏水, 运行缓冲液和样品溶液均经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后使用。

2 方法与结果

2.1 电泳条件: 未涂层毛细管柱(80.5 cm×75 μm, 有效长度 72.5 cm), 运行缓冲液为 10 mmol/L

pH 9.0 的硼砂溶液, 温度 30 ℃, 运行电压 30 kV, 正极压力进样 5 kPa×5 s, 检测波长 200 nm, 对峰面积进行时间校正。每次进样前依次用 0.1 mol/L NaOH 冲洗柱 1 min, 二次蒸馏水冲洗 1 min, 缓冲液冲洗 2 min。在本实验条件下, 分离效果良好, 阿魏酸对照品与克心疼缓释片样品的电泳图谱见图 1。

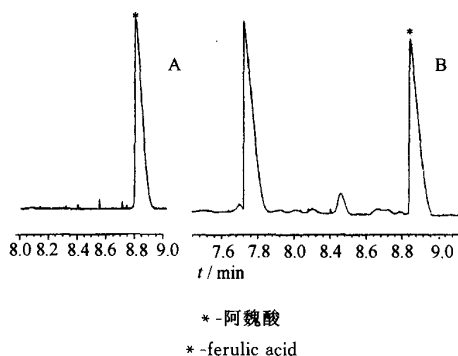


图 1 阿魏酸对照品(A)和克心疼缓释片(B)的 HPCE 图
Fig. 1 HPCE chromatograms of ferulic acid (A) and Kexinteng Sustained-release Tablet (B)

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取阿魏酸对照品

收稿日期: 2004-07-15

基金项目: 国家 863 项目(2004AA625030, 2001AA620503); 中国科学院方向性创新项目(KZCX3-SW-215)

作者简介: 张 婷(1978—), 女, 山东青岛人, 助理工程师, 硕士, 2000 年毕业于山东中医药大学中药学专业, 工作于山东省天然药物工程研究中心, 2004 年获得中国海洋大学硕士研究生学位。

Tel: (0535) 6717618 E-mail: zhangting01@luye-pharm.com

* 通讯作者

3.57 mg,置1 mL量瓶中,加至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取克心缓释片,研细,精密称定1.012 g,用50 mL甲醇回流提取2次,每次20 min,挥干甲醇,用水饱和正丁醇溶解后,以0.26 mol/L Na_2CO_3 溶液萃取完全,合并碱液,调pH 2,乙醚萃取,合并乙醚液,挥干乙醚,用甲醇转移至5 mL量瓶中,加至刻度,备用。

2.4 标准曲线的制备:取阿魏酸对照品溶液50、70、100、120、150 μL ,分别置5 mL量瓶中,用甲醇稀释并加至刻度,依次进样。以阿魏酸质量浓度为横坐标,峰面积与迁移时间比值为纵坐标,进行回归,得回归方程为 $Y = 2.4819X - 3.7113$, $r = 0.9997$,线性范围:35.7~107.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 精密度试验:取71.4 $\mu\text{g/mL}$ 阿魏酸对照品溶液,重复进样5次,测定峰面积,计算峰面积与迁移时间的比值,计算得其RSD为0.46%。

2.6 重现性试验:精密称取同一批样品5份,制备供试品溶液,计算峰面积与迁移时间的比值,其RSD为1.0%。

2.7 稳定性试验:取供试品溶液,分别在0、2、4、6 h测定峰面积与迁移时间的比值,其RSD为1.5%。表明供试品溶液在6 h内稳定性较好。

2.8 加样回收率试验:取含阿魏酸75.28 mg/g的克心缓释片样品5份,各约0.5 g,各加入3.57 mg/mL阿魏酸对照品溶液2.0 mL,制备供试品溶液,测定回收率为98.4%,RSD为3.73%。

2.9 样品测定:吸取供试品溶液10 μL 进样,每批取3份,测定峰面积与迁移时间的比值,按照标准曲线法计算样品中阿魏酸的质量分数,结果见表1。

表1 克心缓释片中阿魏酸的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of ferulic acid in Kexinteng Sustained-release Tablet ($n=3$)

批号	阿魏酸/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
200301	75.29
200302	75.81
200303	74.91

3 讨论

3.1 缓冲液pH值的确定:阿魏酸的荷电性随pH的不同而异,pH<7时,阿魏酸以中性分子存在。在毛细管区带电泳模式下,中性组分之间难以分离,这样当缓冲液pH<7时,阿魏酸会与样品中其他中性组分同时出峰,使分离和定量困难。而当pH>7时,阿魏酸以羧酸根阴离子存在,在中性组分之后出峰,易于分离和定量。为使阿魏酸既能迅速出峰,又能与其他峰分离完全,本实验选择缓冲液pH 9.0。

3.2 同存成分的干扰:克心缓释片中含有延胡索,其主要成分为总生物碱,为排除其影响,样品处理采用甲醇提取后,挥干甲醇,用水饱和正丁醇溶解后, Na_2CO_3 碱液萃取的办法。实验表明,既不破坏被测成分阿魏酸,又有效排除了同存成分的干扰。

References:

- [1] Huang L S, Guo J X, Liu Y M, et al. Studies on determination of ferulic acid by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(2): 134-136.
- [2] Sun S R, Huang X, Ren P, et al. Quantitative analysis of ferulic acid in serum after oral administration of decoction of both *Ligusticum chuanxiong* and *Salviae miltiorrhizae* root in patients with blood stasis by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (3): 223-225.
- [3] Fu S P, Wang L X, Zhang F, et al. Determination of ligustrazin and ferulic acid in Si-wu-tang and its related preparations by capillary zone electrophoresis [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2003, 21 (4): 371-374.

利用板蓝根水提醇沉物生产产朊假丝酵母

张丽霞,杜连祥,路福平

(天津科技大学生物工程学院 天津市工业微生物重点实验室,天津 300222)

摘要:目的 以板蓝根的水提醇沉物为原料培养产朊假丝酵母。方法 将原料液化、糖化处理,以此水解液为发酵液进行液态发酵,并对该菌在水解液中的生长特性及发酵条件进行研究。结果 优化后的培养条件为:水解液还原糖含量2.65%,温度28℃,pH值5.5~6.5,接种量9%,装液量100 mL (500 mL三角瓶)。在优化培养条件下培养20 h后,产朊假丝酵母的生长达到稳定期,其活菌数达到 $6.61 \times 10^8/\text{mL}$ 。经检测,干燥后的菌粉中靛玉红达0.45 $\mu\text{g/g}$ 。结论 以板蓝根水提醇沉物为原料生产产朊假丝酵母是可行的。

关键词:板蓝根;液态发酵;产朊假丝酵母;靛玉红

中图分类号:R282.15; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)04-0531-04