

HPLC 测定丹膝颗粒中丹酚酸 B 的含量

李翔,刘皈阳*,马建丽,周亮,王芳

(解放军总医院第一附属医院药剂药理科,北京 100048)

[摘要] 目的:建立测定丹膝颗粒中丹酚酸 B 的含量。方法:采用高效液相色谱法,Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5 μm),甲醇-1% 甲酸溶液(40:60),检测波长 286 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。结果:丹酚酸 B 在 0.207~8.264 μg 与其峰面积线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率分别为 100.20%,RSD 1.14%。结论:方法专属性强、重复性好、结果准确可靠,可用于丹膝颗粒的质量控制和评价方法。

[关键词] 丹膝颗粒;丹酚酸 B;高效液相色谱法;测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0135-02

Determination of Salvianolic Acid B in Danxi Granula by HPLC

LI Xiang, LIU Gui-yang*, MA Jian-li, ZHOU Liang, WANG Fang

(Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of salvianolic acid B in Danxi Granula. **Method:** The Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used; the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; the mobile phase consisted of methanol-1% formic acid (40:60) with the detection wavelength at 286 nm; the column temperature was at 30 ℃. **Result:** A good linear correlation of salvianolic acid B was observed within the range of (0.207-8.264) g ($r=0.9999$), with the average recovery was 100.20% (RSD 1.14%). **Conclusion:** The method is simple and accurate with good specificity and reproducibility, and it can be used for the quality control and evaluation of Danxi Granula.

[Key words] Danxi Granula; salvianolic acid B; HPLC; determination

丹膝颗粒是由丹参、牛膝、天麻等多味中药组成,具有养阴平肝、熄风通络、清热除烦的功能,用于中风病中经络恢复期淤血阻络兼肾虚证,症见半身不遂、口舌喎斜、舌强语蹇、偏身麻木、头晕目眩、腰膝酸软等,脑梗塞恢复期见上述症状者。方中丹参为君药,现代药理研究证明丹酚酸 B 具有显著的心血管活性,被认为是丹参药效作用的主要物质基础之一^[1-2]。目前,丹膝颗粒在心血管疾病的临床应用较为广泛,但该制剂质量控制及含量测定方法均未见文献报道。为了能够有效评价丹膝颗粒的质量,本试验建立 HPLC 测定其中丹酚酸 B 的含量,为

制定丹膝颗粒的质量标准提供参考和借鉴。

1 仪器和试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(四元泵,VWD 检测器,自动进样器,ChemStation 化学工作站),Mettler AE240 型电子天平,KQ3200DB 型数控超声波清洗器。

丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 115939-25-8);丹膝颗粒(10 g/袋,九芝堂股份有限公司,批号 20110802,20110716,20110808);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),甲醇-1% 甲酸溶液(40:60)为流动相,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 286 nm,柱温 30 ℃。理论板数按丹酚酸 B 峰计不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹酚酸 B 对照

[收稿日期] 20120227(019)

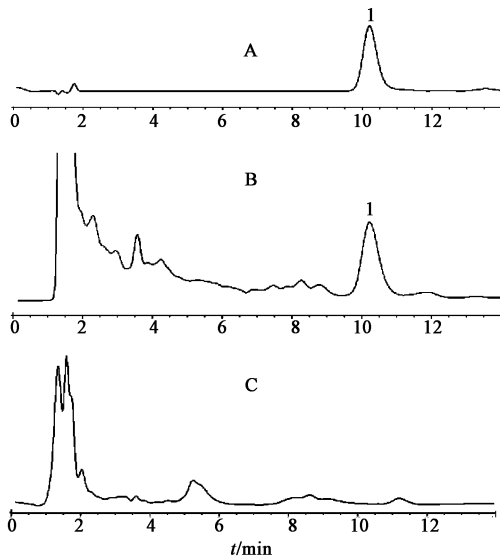
[第一作者] 李翔,主管药师;Tel:010-66867401,E-mail:lxhj@hotmail.com

[通讯作者] *刘皈阳,副主任药师;Tel:010-66867081,E-mail:liuguigui@gmail.com

品 10.33 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 用 75% 甲醇定容, 摇匀, 即得 206.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液, 置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 100 mL, 称定质量, 超声处理(功率 150 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 专属性试验 按 2.3 项下方法, 制备缺丹参的阴性样品溶液, 按 2.1 色谱条件测定对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液。结果显示, 供试品溶液中丹酚酸 B 色谱峰与其他色谱峰能达到基线分离, 且保留时间与对照品溶液一致, 阴性对照溶液在相同保留时间处无色谱峰, 表明其他组方药材味对丹酚酸 B 的测定无干扰, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 丹酚酸 B

图 1 丹膝颗粒 HPLC

2.5 线性关系考察 精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液 1, 2, 5, 10, 20, 40 μL , 按 2.1 色谱条件进样, 测定峰面积。以丹酚酸 B 进样量(μg)为横坐标, 峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 632.02 X - 23.86$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明, 丹酚酸 B 在 0.2066 ~ 8.264 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次。结果丹酚酸 B 峰面积 RSD 0.34%, 表明仪器的精密度良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样。结果丹酚酸 B 峰面积的 RSD 1.65%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批号样品 6 份(批号 20110802), 按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液, 测定丹酚酸 B 的平均含量为 5.629 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 1.78%, 表明方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批号样品 6 份(批号 20110802), 精密加入适量丹酚酸 B 对照品溶液, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 分别测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 丹酚酸 B 加样回收率

取样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.252 2	1.419 6	1.239 6	2.668 5	100.75		
0.253 9	1.429 2	1.239 6	2.665 1	99.70		
0.254 8	1.434 3	1.239 6	2.653 2	98.33		
0.252 4	1.420 8	1.239 6	2.658 7	99.87	100.20	1.14
0.251 5	1.415 7	1.239 6	2.673 2	101.44		
0.253 1	1.424 7	1.239 6	2.678 4	101.14		

2.10 样品含量测定 取 3 批次样品, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 测定丹酚酸 B 的含量。结果 3 样品中丹酚酸 B 的含量分别为 5.629, 5.267, 5.071 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

通过比较多种流动相体系对丹酚酸 B 的分离效果, 发现采用甲醇-1% 甲酸溶液(40:60)为流动相可以取得令人满意的色谱峰形和分离效果, 较药典采用的甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59)流动相组成更为简单^[3-4]。

分别采用甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇和水为超声提取的溶剂, 考察丹酚酸 B 的提取效率发现, 除纯甲醇外其余溶剂对丹酚酸 B 的提取效率较为一致。通过观察色谱图, 可以发现 75% 甲醇供试品溶液中, 杂质色谱峰最少, 且吸收度较低, 故确定 75% 甲醇为提取溶剂。

本试验具有操作简单, 快速, 稳定、准确的特点, 可以用于丹膝颗粒的质量控制与评价, 能够更好的保证该制剂在临床应用的安全性和有效性。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 70.
[2] 汪芸. 丹酚酸 B 对心脑血管疾病病理作用的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(35): 4634.
[3] 刘元, 莫海涛, 宋志钊, 等. HPLC 法测定千斤脑康宁胶囊中丹酚酸 B 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 37.
[4] 刘文琴. HPLC 测定心舒颗粒中丹酚酸 B 的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2572.

[责任编辑 顾雪竹]