

HPLC 法测定乳块消片中丹参素钠的含量

赵秀艳, 柳莹, 徐加林, 刘铁成 (吉林省通化市药品检验所, 通化 134001)

摘要: 目的 改进乳块消片中丹参素钠含量测定的提取方法, 优化测定条件。方法 采用反相高效液相色谱法, 选用 Ultimate AQ-C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈-甲醇-水-冰醋酸 (0.5: 8: 92: 1), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 280 nm。结果 丹参素钠在 0.0950~0.8550 μg · mL⁻¹ 范围内呈良好线性, $r = 0.9998$, 方法平均回收率为 100.21%, RSD = 0.49%。结论 改进原有提取方法后操作简便、快速, 结果准确, 分离效果好, 为乳块消片的质量评价提供了依据。

关键词: 乳块消片; 丹参素钠; HPLC; 提取条件; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2009) 02-0162-03

Determination of Sodium Danshensu in Rukuaixiao Tablets by HPLC

Zhao Xiuyan, Liu Ying and Xu Jialin (Tonghua Institute for Drug Control, Tonghua 134001)

ABSTRACT: **Objective** To establish a HPLC method for improving the way of extracting for determination condition and optimization quantitative determination. **Methods** Ultimate AQ-C₁₈ column was used with acetonitrile-methanol-water-icy acetic acid (0.5: 8: 92: 1). The flow rate 1.0 mL · min⁻¹ and the detection wavelength was 280 nm. **Results** The sodium danshensu presents a good Linearity ($r = 0.9998$) within the range of 0.0950~0.8550 μg · mL⁻¹. The average recovery rate were 100.21% and the RSD = 0.49% ($n = 6$). **Conclusions** The Improved method of extracting is simple, fast, accurate and with a good separating result. Thus provide a basis for the quality evaluation of the Rukuaixiao Tablets.

KEY WORDS: Rukuaixiao Tablets; sodium danshensu; HPLC; extracting condition; quantitative determination

乳块消片是由橘叶、丹参、皂角刺、地龙、川楝子、王不留行等六味中药组成的复方制剂, 具有疏肝理气, 活血化瘀, 消散乳块之功效。该品种被《中国药典》2005 年版一部收载, 并以其中君药之一丹参^[2]的主要成分丹参素钠^[3-6]的含量作为质量控制指标。但我们在药品检验过程中对其有关的实验条件及检验标准进行了考察, 结果发现原标准中所采用中性氧化铝吸附, 水洗液离心弃去, 再用 5% 草酸溶液洗脱, 测定所得的丹参素钠含量较低。对多次比较实验的结果进行分析发现, 丹参素钠是一种水溶性酚酸^[7-9], 为水溶性成分, 在原标准中虽然采用中性氧化铝吸附, 但由于水的极性较强, 在所弃去的水洗液中测得所流失丹参素钠的含量仍

较高, 即水洗液中含有较大损失的量, 因此对原标准提取方法的洗脱溶媒按下述几种方法进行了优化筛选试验:

- (1) 采用 20% 甲醇为洗脱溶媒, 提取离心 4 次;
- (2) 采用 50% 甲醇洗脱溶媒超声提取 4 次;
- (3) 采用水为洗脱溶媒, 提取离心 4 次;
- (4) 采用 5% 草酸为洗脱溶媒, 提取离心 4 次;

上述 4 种方法, 经对比试验结果发现, 以方法“(4)”提取充分完全, 各峰之间分离效果好且无杂质峰干扰。因此, 将其作为供试品溶液的制备方法。

在优化筛选实验条件的同时, 我们对这一方法的准确性、重复性、精密度等各项指标均进行了考察, 结果证明该法稳定可靠, 简便、快速, 分离效

果及重现性良好, 并且符合试剂的筛选尽可能无毒有利于环保的要求, 可作为乳块消片质量评价及控制指标。

1 仪器与试剂

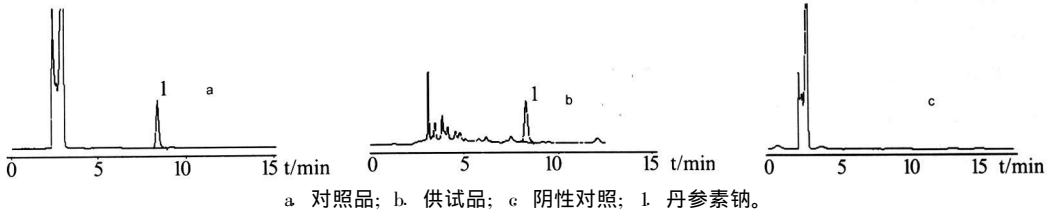
Agilent. 1100 型高效液相色谱仪, LG-2010AHT 型高效液相色谱仪 (日本岛津), N2000 色谱数据处理工作站。UV-260 紫外分光光度计。丹参素钠对照品 (中国药品生物制品检验所, 批号: 110855-200405 规格: 供含量测定用); 乳块消片 (吉林俊宏药业有限公司, 批号: 20050501, 20050502, 20050503); 阴性样品自制。甲醇、乙腈为色谱纯, 水为纯化水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Ultimate AQ-C₁₈ (4.6mm × 200mm, 5μm); 流动相: 乙腈-甲醇-水-冰醋酸 (0.5: 8: 92: 1); 流速: 1.0mL · min⁻¹, 柱温: 室温; 检测波长为 280nm; 进样量: 10μL, 理论板数: 按丹参素峰计算应不低于 3500。

2.2 溶液的制备



a 对照品; b. 供试品; c 阴性对照; 1 丹参素钠。

图 1 乳块消片 HPLC 色谱图

2.4 线性关系的考察

精密称取丹参素钠对照品适量, 加 5% 草酸溶液制成每 1mL 含 47.5μg 的溶液, 分别精密吸取 2, 6, 10, 14, 18μL 进样测定峰面积, 以对照品溶液进样量 (μg) 为横坐标, 以峰面积值 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线。计算回归方程:
 $Y = 3.5937947 \times 10^5 X + 2.72535 \times 10^3$ $r = 0.9998$
 结果表明丹参素钠在 0.0950~0.8550μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 稳定性试验

取同一批号供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12h, 同法测定含量, RSD = 0.48%。结果表明供试品溶液在 12h 内稳定。

2.6 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10μL, 注入液相色谱仪中, 重复进样 6 次, RSD = 0.49%

2.7 重复性试验

2.2.1 对照品溶液的制备

取丹参素钠对照品适量, 精密称定, 加 5% 草酸溶液制成每 1mL 含 48μg 的溶液 (相当于每 1mL 含丹参素 43μg)。

2.2.2 供试品溶液的制备

取重量差异项下的供试品 4g, 研细, 精密称取 0.3g, 置小烧杯中, 加 5% 草酸 2mL 及中性氧化铝 (100~200 目) 2g, 搅拌均匀, 用 5% 草酸洗涤 4 次, 每次 10mL, 离心 (转速为每分钟 3000 转), 收集 4 次草酸洗脱液, 置 50mL 量瓶中, 加 5% 草酸溶液至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备

按处方比例配成不含丹参的阴性对照样品, 照供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10μL, 注入液相色谱仪中, 记录色谱, 在相同的色谱条件下, 样品中丹参素钠峰与各相邻成分峰能有较好的分离效果, 且阴性对照溶液无干扰, 见图 1。

取同一批号供试品, 取样 6 份, 依“2.2.2”项下操作, 制备供试品溶液, 测得其平均含量 6.77mg · g⁻¹, RSD = 0.16%。表明本法具有良好的重现性。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的供试品 (批号 050501, 含量为 6.78mg · g⁻¹) 5 份, 分别精密加入一定量的对照品溶液, 照含量测定方法测定, 计算, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果 (n = 5)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2.097	1.042	3.143	100.38		
2.094	1.042	3.142	100.58		
2.096	1.042	3.145	100.67	100.21	0.49
2.105	1.042	3.142	99.52		
2.104	1.042	3.145	99.90		

2.9 样品测定结果及限度

取不同批号的供试品,按供试品溶液制备方法处理并测定,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

批号	丹参素钠	平均含量
050501	6.76	
050502	6.78	6.77
050503	6.77	

3 讨论

3.1 提取方法的筛选

通过对不同提取方法所测得实验结果比对,以方法 4 提取充分完全,除杂及分离效果好,试剂稳定,廉价易购,毒性小,有利于试剂的选择即可能满足环保的要求。此方法所测得的结果可作为其质量评价的依据。

3.2 检测波长的选择

根据丹参素钠对照品的 5% 草酸溶液,经 UV-260 紫外分光光度计在 200~400nm 范围内进行扫描,丹参素钠在 280nm 波长处,有最大吸收,故选择 280nm 为本实验的测定波长^[10]。

3.3 流动相的选择

我们根据参考资料“乳块消片”^[1]项下的含量测定条件,以乙腈-甲醇-水-冰醋酸(0.5:8:92:1)为流动相,分离效果较好,保留时间适度,因此,确定其为本法的流动相。

通过以上的实验结果对比,我们认为采用此方法来进行乳块消片中丹参素钠的含量测定^[11-12],方

法简便、快速、准确、灵敏度高且重现性好。可作为质量评价及控制指标,同时可提高此品种含量的限度。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部,2005:500
- [2] 黄兰芷,付超美,胡慧玲,等. HPLC 法测定抗癌颗粒中丹参素钠的含量[J]. 成都中医药大学学报, 2006, 29(2): 53-55.
- [3] 刘东辉,董意甜. HPLC 法测定心可宁胶囊中丹参素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(2): 128-131.
- [4] 林少华. HPLC 法测定舒心丹中丹参素钠的含量[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(5): 14-17.
- [5] 潘见,徐涛. 液相色谱法制备丹参素钠[J]. 中草药, 2003, 34(2): 125-127.
- [6] 陈志清,徐柏颐. HPLC 法测定胃宁冲剂中丹参素的含量[J]. 江苏药学与临床研究, 1998, 6(4): 30-33.
- [7] 黄湘,刘丹,文萍. HPLC 法测定丹七片中丹酚酸 B 的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2007, (6): 43-46.
- [8] 李朝霞,王地. 丹参水溶性成分的研究进展[J]. 北京中医, 2004, 23(3): 176-179.
- [9] 高越,黄芪. 丹参中多个有效成分的制备和质量控制研究[D]. 第二军医大学, 2006.
- [10] 包丽新,颇文生,尹政元,等. HPLC 法测定养心颗粒中丹参素的含量[J]. 黑龙江医药, 200, 13(3): 129-131.
- [11] 代彩芹,袁杰. 高效液相色谱法测定复方丹参注射液中丹参素的含量[J]. 解放军药学报, 2000, 16(5): 277-279.
- [12] 严常开,苏柏萍,魏立兵,等. 高效液相色谱法测定丹参通脉口服液中药丹参素的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(10): 600-603.

国家食品药品监督管理局提醒——警惕阿昔洛韦和头孢拉定不良反应

日前,国家食品药品监督管理局根据国家药品不良反应监测中心的报告提醒广大医务工作者、药品生产经营企业及广大公众警惕阿昔洛韦和头孢拉定不良反应。

国家药品不良反应监测中心病例报告数据库数据显示,阿昔洛韦导致急性肾功能损害和头孢拉定导致血尿的问题依然突出。

为使医务工作者、药品生产经营企业以及公众了解此情况,国家食品药品监督管理局提醒广大临床医师在选择用药时,应进行充分的效益/风险分析,并在用药过程中密切关注阿昔洛韦和头孢拉定严重不良反应;相关生产企业应对阿昔洛韦引起急性肾功能损害和头孢拉定导致血尿的发生机制进行深入研究,综合评价这两个品种的效益/风险,及时采取有效措施,最大程度减少同类药品不良反应的重复发生,保障公众的用药安全。

国家食品药品监督管理局将继续关注上述品种的安全性问题,及时反馈相关信息,保障公众用药安全发挥应有的作用。