

反相高效液相色谱法同时测定通脉口服液中丹参素和原儿茶醛的含量

董红,李胜迎,闫卫东,彭彬(浙江大学化学系,杭州 310027)

摘要:目的 建立同时测定通脉口服液中丹参素和原儿茶醛含量的方法。方法 采用 RP-HPLC对制剂中主要成分丹参素和原儿茶醛进行定量分析,色谱柱 Suntek Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),甲醇-0.5%冰醋酸溶液(16:84)为流动相,检测波长 281 nm。结果 RP-HPLC结果稳定,精密度高,重现性良好,丹参素和原儿茶醛分别在 0.315 2~1.260 8 μg和 0.043 0~0.172 2 μg范围内有较好的线性关系,加样回收率分别为 101.81%和 100.47%,RSD为 2.13%和 2.79%。结论 可有效控制制剂质量。

关键词:通脉口服液;丹参;丹参素;原儿茶醛;RP-HPLC

中图分类号:R917.730.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)06-0490-03

Simultaneous determination of danshensu and protocatechuic aldehyde in Tongmai Koufuye by RP-HPLC

DONG Hong, LI Sheng-ying, YAN Wei-dong, PENG Bin(Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine danshensu and protocatechuic aldehyde in Tongmai koufuye simultaneously. **METHODS**

Danshensu and protocatechuic aldehyde in Tongmai koufuye were determined by RP-HPLC. Suntek Kromasil C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was metanol-0.5% acetic acid=16:84, and UV detection wavelength was at 281 nm. **RESULTS** The calibration curves of danshensu and protocatechuic aldehyde were linear over the range of 0.315 2~1.260 8 μg and 0.043 0~0.172 2 μg. The average recoveries of danshensu and protocatechuic aldehyde were 101.81% and 100.47%, RSD were 2.13% and 2.79%, respectively. **CONCLUSION** The quality of Tongmai koufuye can be controlled by the method.

KEY WORDS: Tongmai Koufuye; Radix Salviae Miltiorrhizae; danshensu; protocatechuic aldehyde; RP-HPLC

通脉口服液是由中药丹参(Radix Salviae Miltiorrhizae)、川芎(Rhizoma Chuanxiong)、葛根(Radix Puerariae)经现代工艺加工制成的中药复方制剂。具有活血通脉、祛瘀止痛、清心除烦等功效。用于缺血性心脑血管疾病、动脉硬化、脑血栓、脑缺血、冠心病、心绞痛。本品系收载于卫生部药品标准中药成方制剂第二十册,标准编号为 WS₃-B-3980-98,原标准仅做了葛根素薄层色谱鉴别,未收载含量测定项。为了确保产品的质量,笔者用 RP-HPLC建立了该制剂中丹参素和原儿茶醛的含量测定方法,经方法学验证,重现性好,空白无干扰,可作为控制本制剂质量的分析方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-10AD 高效液相色谱仪(日本岛津),N2000 色谱数据处理软件(浙江大学信息工程研究所),UV 260(日本岛津)。

1.2 试剂

甲醇为色谱纯(杭州美迪康公司提供);水为超纯水,其他试剂均为分析纯;原儿茶醛对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号 0810-9803 供含量测定用);丹参素钠盐对照品,由上海医科大学提供;丹参、川芎、葛根药材购自华东医药有限公司中药饮片厂,经鉴定,符合中国药典 2005 版(一部)^[1]有关标准。

2 方法与结果

本制剂主要成分为丹参,其主要有效成分为丹参素、原儿茶醛。现采用反相高效液相色谱法同时测定丹参素、原儿茶醛在通脉口服液中的含量。

2.1 色谱条件

色谱柱:Suntek Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);检测波长 281 nm;流动相:甲醇-0.5%冰醋酸溶液(16.5:83.5);流速:1 mL/min;进样量:20 μL。结果显示丹参素和原儿茶醛峰得到完全分离,峰形良好。理论板数按丹参素峰计算不低于 5 000,按原儿茶醛峰计算不低于 3 000。

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的丹参素和原儿茶醛对照品适量,用 0.5%醋酸溶解,制成每 1 mL 含丹参素 80 μg,原儿茶醛 10 μg 的对照品溶液①,和每 1 mL 含丹参素 40 μg,原儿茶醛 5 μg 的对照品溶液②,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取本品 2 mL,置 50 mL 量瓶中,用 0.5%醋酸稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,即得。

2.2 方法可行性试验

2.2.1 测定波长的选择 取丹参素、原儿茶醛对照品适量,加 0.5%醋酸制成对照品溶液,置紫外分光光度计下记录其紫外吸收光谱,结果显示,丹参素和原儿茶醛均在 281 nm 波长处有最大吸收,故选择 281 nm 为测定波长。

2.2.2 按处方及工艺制备无丹参的阴性样品 按上述含量测定方法测定考察方法的专属性,将阴性溶液和对照品溶液按“2.1”色谱条件进样,结果表明该阴性样品的色谱图中在丹参素和原儿茶醛峰处无干扰。

2.3 标准曲线和线性关系考察

精密量取对照品溶液①4, 6, 10, 12, 14, 16 μ L注入高效液相色谱仪,测定峰面积 Y ,以进样量(μ g)为横坐标,作标准曲线,并以最小二乘法计算得回归方程分别为丹参 $y = 366\ 516.8x - 18\ 772.6$ 和原儿茶醛 $y = 2\ 668\ 714.9x - 46\ 354.9$, R 分别为 0.999 7和 0.998 1,结果显示进样量丹参在 0.315 2~1.260 8 μ g,原儿茶醛在 0.043 0~0.172 2 μ g范围内有良好的线性关系。

2.4 系统适用性试验

取供试品溶液,按“2.1”色谱条件,进 20 μ L,重复进样 6 次,测定峰面积,结果丹参素 RSD 为 2.01%,原儿茶醛 RSD 为 2.45%。

2.5 测定液稳定性试验

取供试品溶液,按“2.1”色谱条件,每隔一定时间进样 1 针,测定峰面积,结果丹参素 RSD 为 2.02%;原儿茶醛 RSD 为 1.96%。显示供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

2.6 方法重复性试验

精密量取同一批样品(050110)6份,按 2.1.2 供试品溶液的制备方法制备,取供试品溶液和对照品溶液②各 20 μ L,分别进样,测定峰面积,并计算丹参素和原儿茶醛的含量。

2.7 加样回收率试验

精密量取已知含量样品 6 份,精密加入丹参素对照品适量,按 2.1.2 供试品溶液制备方法制备,取供试品溶液和对照品溶液②各 20 μ L,分别进样,测定峰面积,计算回收率,平均回收率丹参素为 100.53%, RSD = 2.06%,原儿茶醛为 99.98%, RSD = 2.45%。结果见表 1。

表 1 丹参素和原儿茶醛回收率试验

No.	样品量 (mg)	加入的对照 品 (mg)	测定值 (mg)	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
丹参素						
1	0.725 5	1.280 6	2.025 1	101.48		
2	0.724 7	1.281 0	2.000 9	99.63		
3	1.032 5	0.970 0	2.034 2	103.27	100.53	2.06
4	1.032 5	0.970 0	1.987 6	98.47		
5	1.401 5	0.641 6	2.031 7	98.22		
6	1.386 4	0.640 7	2.040 6	102.11		
原儿茶醛						
1	0.078 5	0.164 2	0.239 6	98.12		
2	0.070 1	0.163 3	0.231 4	98.78		
3	0.101 5	0.134 4	0.239 5	102.67	99.98	2.45
4	0.101 5	0.134 4	0.232 2	97.23		
5	0.150 4	0.087 2	0.237 5	99.87		
6	0.149 5	0.086 9	0.239 2	103.17		

2.8 样品测定

按“2.1.2”供试品溶液的制备方法,测定十批样品的含量,结果见表 2。

表 2 样品中丹参素和原儿茶醛含量测定结果

Tab 2 Determination of danshensu and protocatechuic aldehyde in samples

批号	平均含量 (mg/mL)		RSD%	
	丹参素	原儿茶醛	丹参素	原儿茶醛
050310	1.040	0.105	2.02	2.10
050311	1.040	0.099	2.12	4.07
050312	1.017	0.101	0.95	0.63
050319	0.987	0.099	2.99	1.90
050320	0.805	0.085	1.01	2.18
050321	0.869	0.089	2.13	1.63
050327	0.818	0.089	1.89	1.06
050328	0.826	0.090	0.83	2.12
050329	0.821	0.088	1.99	0.89
050330	0.808	0.090	3.00	1.27

3 讨论

丹参为方中君药,丹参主要含以丹参酮 II A 为代表的酮类成分以及丹参素、原儿茶醛等水溶性成分。很多文献都以丹参酮 II A 对丹参进行定量测定,但丹参酮 II A 对光和热很不稳定,遇湿热易降解损失^[4]。曾元儿等^[5]研究表明,丹参乙醇浸膏中丹参酮 II A 损失的程度随温度的升高和时间的延长而增加,80 $^{\circ}$ C 和 100 $^{\circ}$ C 烘干 5 h,丹参酮 II A 损失均达 50% 以上。杜志谦等^[6]采用化学动力学方法测定出丹参中丹参酮 II A 受热含量下降的程度,丹参酮 II A 的含量下降按一级反应规律下降。且本处方是采用水煎工艺,丹参酮 II A 是脂溶性成分,所以采用同时测定丹参素和原儿茶醛的含量来控制制剂质量。

丹参素及原儿茶醛的结构中含有邻二酚羟基,易被氧化变色,蔡喜等^[7]最近研究表明用 1% 醋酸作为溶剂配制对照品溶液及进行样品前处理,两成分含量在 3 个星期内基本保持不变。而本实验采用 0.5% 醋酸配制对照品及供试品,并在流动相中加入 0.5% 的醋酸以抑制其氧化,效果良好。实验表明,该方法简单、准确,重现性好,精密度高,可有效控制该制剂含量。

液相检测中,丹参素和原儿茶醛峰后还有许多成分,在两峰出完后采用梯度洗脱,会使测定结果重现性更好,准确度更高。梯度程序为:0~30 min, 16% 甲醇;33 min, 40% 甲醇;45 min, 停止。

参考文献

- [1] ChP (2005) Vol. I (中国药典 2005 年版.一部) [S].
- [2] LI Zh X, YANG J, LI B, *et al.* Quality standard for Tongmai pills [J]. Chin J MAP (中国现代应用药学), 2004, 21(4): 297-300.
- [3] LUO Y, LUO Y, LUO Sh D, *et al.* Identification of herbs in Shennong granules [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology (中药新药与临床药理), 2005, 16(2): 135-136.
- [4] ZHENG Zh H, DONG Z H, SHE J, Traditional Chinese Drug Research and application(中药现代研究与应用) [M]. Vol 2. Beijing: Academe Press, 1997: 1093.

- [5] ZENG Y E, XU H, The influence of torrefaction temperature and time on tanshinone II A [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology (中药新药与临床药理), 1997, 8 (1): 38-39.
- [6] DU ZH Q, WANG G Q, Regularity of lowering heated contents of tanshinone II A in root of salvia miltiorrhiza [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药), 2002, 33(10): 892-893.
- [7] CAI X, FANG D M, Determination of salvianic acid A and protocatechuic aldehyde in compound salvianic dripping pills by HPLC [J]. Research and Practice of Chinese Medicines (现代中药研究与实践), 2005, 19(3): 38-39.

收稿日期: 2005-09-27