

HPLC 测定乳疾宁胶囊中丹酚酸 B 的含量

段晓颖(河南中医学院第一附属医院中药制剂实验室,郑州 450000)

摘要:目的 建立乳疾宁胶囊中丹酚酸 B 的含量测定方法。方法 色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相:甲醇-乙腈-甲酸-水(28:8:1:63),检测波长:286 nm。结果 丹酚酸 B 在 0.9~2.7 μg 内呈良好线性关系, $r=0.9997$,加样回收率平均为 100.1% ($n=9$,RSD=2.2%)。结论 本法灵敏度高、操作简便、结果准确,可用于乳疾宁胶囊中丹酚酸 B 的含量测定。

关键词:乳疾宁胶囊;丹酚酸 B;高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R917.101 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2009)04-0310-03

Determination of Salvianolic Acid B in Rujining Capsule by HPLC

DUAN Xiaoying (TCM Preparation Laboratory for the First Affiliated Hospital Henan College of TCM, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish the method for determining the concentration of salvianolic acid B in Rujining capsule by HPLC. **METHODS** Using Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm,5 μm) as chromatographic column, methanol-acetonitrile-formic acid-water(28:8:1:63) as mobile phase. The detection wavelength was 286 nm. **RESULTS** The standard curves of salvianolic acid B were linear in range of 0.9–2.7 μg, $r=0.9997$. The average recovery of salvianolic acid B were 100.1% ($n=9$, RSD=2.2%). **CONCLUSION** This method is sensitive, quick and accurate for the determination of salvianolic acid B in Rujining capsule.

KEY WORDS:Rujining capsule; salvianolic acid B; HPLC; determination

乳疾宁胶囊由丹参、柴胡、香附、赤芍、王不留行等组成,具有活血通经,祛瘀止痛,疏肝理气等功效;用于肝气郁结,乳腺增生,乳房胀痛等症。丹参为方中君药,其水溶性成分主要是丹酚酸 B,为更好地控制产品质量,笔者采用高效液相色谱法^[1]测定乳疾宁胶囊中丹酚酸 B 的含量,并对方法学进行了研究。

1 仪器与试剂

Waters2695 型高效液相色谱仪(自动进样器,四元泵,2996 型二极管阵列检测器),Empower 工作软件;sartorius cp225D 型电子天平;丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111562-200403,含量测定用);样品提取用甲醇为分析纯,HPLC 用甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水;乳疾宁胶囊样品(河南中医学院第一附属医院制剂室提供,批号:060310,060315,060321)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse XDB C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相:甲醇-乙腈-甲

酸-水(28:8:1:63),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 286 nm。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75% 甲醇制成每 1 mL 含 0.15 mg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 50 mL,称重,超声 20 min,放冷,再称定重量,用 75% 甲醇补足减失重量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察

精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75% 甲醇制成 0.45 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液,精密量取对照品溶液,加 75% 甲醇制成 0.090,0.135,0.180,0.225,0.270 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液,精密吸取 10 μL 进样,记录峰面积,以丹酚酸 B 对照品进样量(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),得回归方程为 $Y=1 \times 10^6 X - 45722$, $r=0.9997$;线性范围 0.9~2.7 μg。

2.5 阴性干扰试验

作者简介:段晓颖,女,硕士,副主任药师,副教授,硕士研究生导师

Tel:(0371)66233639 E-mail:dxy5288828@sina.com

按照工艺制备缺丹参的阴性对照样品,并按“2.3”项下方法制成缺丹参的阴性对照溶液。精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液、供试品溶液与阴性对照溶液各 10 μL 进样,记录色谱图,见图 1。结果表明,丹酚酸 B 的色谱峰与其他组分分离良好,阴性无干扰。

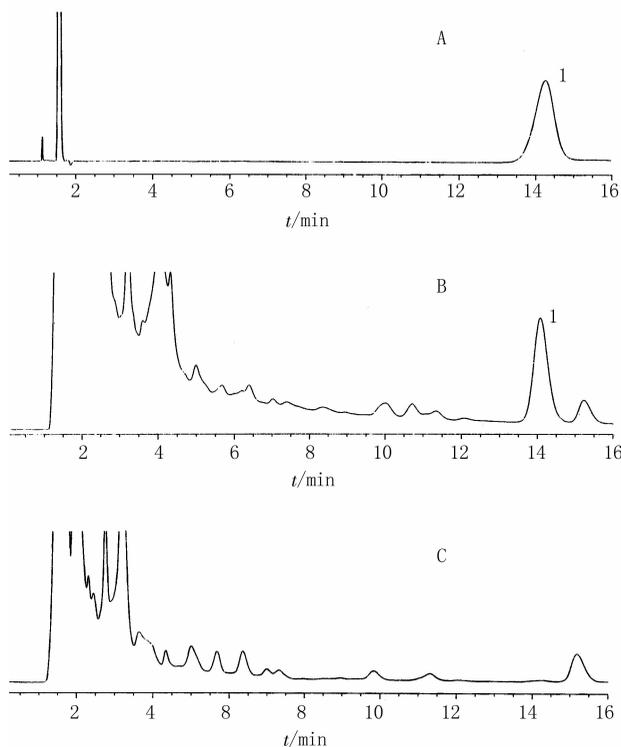


图 1 乳疾宁胶囊 HPLC 色谱图

A - 对照品; B - 样品; C - 阴性对照品; 1 - 丹酚酸 B

Fig 1 HPLC chromatograms of Rujining capsule

A - reference substance; B - sample; C - negative sample; 1 - salvianolic acid B

2.6 仪器精密度试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 分别测定峰面积, 结果 RSD = 0.5%。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液 10 μL 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 测定峰面积, 结果 RSD = 0.8%。

2.8 重复性试验

精密称取同一批号样品 6 份, 按照供试品溶液的制备方法制成 6 份溶液, 各精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪, 测定丹酚酸 B 的含量, 结果 RSD = 1.1%。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品 9 份, 分别精密加入丹酚酸 B 对照品, 按照“2.3”项下方法操作, 测得平均回收率 = 100.1%, RSD = 2.2%, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 (n = 9)

Tab 1 Results of recovery test (n = 9)

| 取样量 /g | 已知量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 0.250 6 | 4.99 | 3.95 | 9.09 | 103.8 | | |
| 0.248 7 | 4.95 | 4.06 | 8.94 | 98.3 | | |
| 0.251 9 | 5.01 | 4.03 | 9.02 | 99.5 | | |
| 0.259 5 | 5.16 | 5.32 | 10.49 | 100.2 | | |
| 0.266 0 | 5.29 | 5.08 | 10.23 | 97.2 | 100.1 | 2.2 |
| 0.253 2 | 5.04 | 4.98 | 10.15 | 98.8 | | |
| 0.256 2 | 5.10 | 6.15 | 11.41 | 102.6 | | |
| 0.252 8 | 5.03 | 6.33 | 11.45 | 101.4 | | |
| 0.251 1 | 5.00 | 6.05 | 10.98 | 98.9 | | |

2.10 样品的含量测定

取 3 批样品 (批号: 060310, 060315, 060321), 分别制成供试品溶液, 精密吸取 10 μL 进样测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (n = 3)

Tab 2 Determination of samples (n = 3)

| 批号 | 丹酚酸 B 含量 /mg · 粒 ⁻¹ | RSD/% |
|--------|-----------------------------------|-------|
| 060310 | 8.2 | 1.5 |
| 060315 | 8.5 | 1.8 |
| 060321 | 8.8 | 1.7 |

3 讨论

3.1 丹参^[2]含有以丹参酮 II_A 为主的脂溶性成分和以丹酚酸 B 为主的水溶性成分, 而活血化瘀的主要成分是后者, 因此, 根据本品主要功效选择丹酚酸 B 为含量测定指标。

3.2 溶媒的选择^[3] 分别以 75% 甲醇溶液和甲醇作溶媒对丹酚酸 B 提取效率进行了考察。结果表明, 前者丹酚酸 B 的提取率明显高于后者, 因此选择 75% 甲醇为溶媒。

3.3 提取方法考察 分别采用水浴回流和超声法对同一批样品提取 30 min, 测定样品中丹酚酸 B 的提取率, 结果表明 2 种方法的提取率相同, 因此选择较为简便的超声法。

3.4 提取时间考察 取同一批样品, 以 75% 甲醇为溶剂, 分别超声 20, 30, 40 min, 结果表明提取效率无差别, 因此选择超声 20 min。

3.5 曾采用甲醇-乙腈-甲酸-水 (30: 10: 1: 59) 为流动相^[3], 结果丹酚酸 B 峰分离度较差, 故将流动相比例略作调整, 改用甲醇-乙腈-甲酸-水 (28: 8: 1: 63), 结果分离度较为理想。

3.6 用 HPLC 测定乳疾宁胶囊中丹酚酸 B 的含量,经方法学考察,证明方法准确、灵敏、简便、快速,可作为乳疾宁胶囊质量控制的指标。

REFERENCES

- [1] XIE X Q. The Development and Application of New Preparation for China Mater Med(中药新制剂开发与应用)[M]. 3rd ed.

Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 248-249.

- [2] ZHENG H Z, DONG Z H, SHE J, et al. Modern Study and Application of China Mater Med(中药现代研究与应用)[M]. Beijing: Xueyuan Publishing House, 1997: 1099.
- [3] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部)[S]. 2005: 52.

收稿日期: 2007-09-03