

# HPLC 测定赤参丹中丹酚酸 B 含量

胡东梅<sup>1,2</sup>, 李杨<sup>3</sup>, 赵庆春<sup>4</sup>(1.锦州市中心医院, 辽宁 锦州 121000; 2.沈阳药科大学, 沈阳 110016; 3.辽宁中医药大学, 沈阳 110031; 4.沈阳军区总医院药剂科, 沈阳 110016)

**摘要:**目的 为保证药物安全有效,完善赤参丹质量标准,对赤参丹中丹酚酸 B 进行了含量测定方法的研究。方法 HPLC 色谱条件: Kromasol C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 甲醇-乙腈-甲酸-水(28:10:1:61)为流动相,检测波长为 286 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果 丹酚酸 B 在浓度 0.108 3~1.299 8 μg 内线性关系良好( $r=0.999 8$ )。样品的平均回收率为 98.7%,RSD 为 1.7%。结论 本方法简便可靠,结果稳定,重复性好,可准确测定赤参丹中丹酚酸 B 的含量。

**关键词:** 赤参丹; 高效液相色谱法; 丹酚酸 B

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)07-0588-03

## Quantitative Determination of Salvianolic Acid B in Chi Shen Waterpills by HPLC

HU Dongmei<sup>1,2</sup>, LI Yang<sup>3</sup>, ZHAO Qingchun<sup>4</sup>(1.*Central Hospital of Jinzhou, Jinzhou 121000, China*; 2.*Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China*; 3.*Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China*; 4.*Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China*)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To perfect the quality standard of Chi Shen waterpills. Salvianolic acid B was chosen as the quality control *index*. **METHODS** HPLC conditions: Kromasil C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), methanol-acetonitrile-formic acid-water(28:10:1:61) as the mobile phase, detection wavelength: 286 nm, flow rate: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **RESULTS** Salvianolic acid B has a good linearity with in the range of 0.108 3-1.299 8 μg. The average recovery rate was 98.7% (RSD=1.7%). **CONCLUSION** The procedure is simple and reliable. The results are stable and reproducible. The established method could determine salvianolic acid B from Chi Shen waterpills accurately.

**KEY WORDS:** chi shen waterpills; HPLC; salvianolic acid B

赤参丹是由我院研制的新型医院制剂,由赤芍、丹参、苍术、防风、红花、黄柏、蝉蜕、蒲公英、乌蛇等诸药组成的复方制剂。用于治疗牛皮癣。丹参有效成分主要有水溶性的酚酸类,包括丹参素、丹酚酸 B 等;脂溶性的二萜醌类,包括丹参酮 II A 等。其中,主要水溶性成分丹酚酸 B (salvianolic acid B) 为三分子丹参素与一分子咖啡酸缩合而成,因本制剂制备工艺为水提取,故采用高效液相色谱法对其水溶性成分丹酚酸 B 进行含量测定<sup>[1-2]</sup>。

### 1 仪器与试剂

600 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Bio-20 型紫外分光光度计(美国 PE 公司); F-1A 超声波发生器(上海超声波仪器厂);赤参丹(锦州市中心医院生产);丹酚酸 B(中国药品生物制品检定所,批号:111562-200302,纯度:97.2%);水为重蒸馏水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasol C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-乙腈-甲酸-水(28:10:1:61);流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温: 35 °C;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,加甲醇制成含 270.8 μg·mL<sup>-1</sup>的溶液,作为对照品储备液,在精密吸取上述溶液 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

#### 2.3 供试品溶液的制备

精密称取本品 0.1 g,置 50 mL 棕色量瓶中,加入甲醇 25 mL,精密称重,超声提取 30 min,放冷,补足重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,收集续滤液,经微孔滤膜过滤器(0.45 μm)过滤,作为供试品溶液<sup>[3]</sup>。

#### 2.4 空白试验

按处方组成,取除丹参外的其余药味,按工艺要求制成缺丹参的阴性对照液。按上述色谱条件测定,结果在丹酚酸 B 峰出现的位置上无对应峰出

作者简介: 胡东梅,女,副主任药师 Tel: (0416)2393174 E-mail: wh197151@sohu.com

现,表明其他组分对测定无干扰。

### 2.5 标准曲线及线性范围

分别精密吸取丹酚酸 B 对照品储备液 0.4, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4, 4.8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取此 7 种溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 按上述条件测定, 以进样量为横坐标, 以色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为  $Y=877\ 336.201\ 3X+1\ 302.599\ 2$ ,  $r=0.999\ 8$ , 结果表明: 丹酚酸 B 在 0.108 3~1.299 8  $\mu$ g 内线性关系良好。

### 2.6 仪器精密性试验

精密吸取同一供试品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 5 次, 测定丹酚酸 B 峰面积, 其 RSD 为 1.2%。

### 2.7 重复性试验

取同一批号的样品 5 份, 按含量测定项下的方法测定, 结果丹酚酸 B 平均含量为 8.0  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 1.9%。

### 2.8 稳定性试验

取供试品溶液, 间隔 2 h 进样 1 次, 每次 10  $\mu$ L, 结果丹酚酸 B 色谱峰面积在 8 h 内基本无变化, RSD 为 0.97%, 表明本实验条件下稳定性良好。

### 2.9 加样回收率试验

精密称取赤参丹 0.1 g, 置 50 mL 棕色量瓶中, 分别精密加入丹酚酸 B 对照品溶液 15 mL、75% 甲

醇 10 mL, 按“2.3”项下方法制备加样回收供试液, 精密吸取加样回收溶液 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪中, 按含量测定项下方法测定。结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果( $n=5$ )

Tab 1 The results of recovery test( $n=5$ )

样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
0.824 0	0.812 4	1.642 6	100.7	98.7	1.7
0.795 4	0.812 4	1.582 3	96.86		
0.801 7	0.812 4	1.600 1	98.27		
0.817 6	0.812 4	1.629 7	99.96		
0.809 8	0.812 4	1.601 4	97.43		

### 2.10 样品测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪中, 测定其中丹酚酸 B 的色谱峰面积, 以外标法计算丹酚酸 B 的含量。结果见表 2。赤参丹中丹酚酸 B 的含量分别不低于 8.0  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $n=3$ )。样品及对照品色谱峰见图 1。

表 2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 The results of content in the sample ( $n=3$ )

批号	平均含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
071012	8.05	0.4
080226	8.08	0.4
080411	8.04	0.4

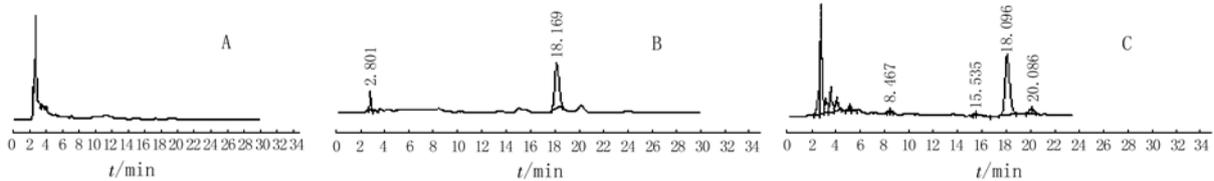


图 1 阴性液(A)、对照品(B)及样品色谱图(C)

Fig 1 HPLC chromatogram of negative sample(A), reference substance(B) and sample(C)

## 3 讨论

中医理论认为牛皮癣(银屑病)多由营卫失和, 风邪入侵; 情致内伤, 气血瘀滞; 饮食失节, 脾胃失和; 邪气蕴积, 气血瘀阻; 血虚风躁, 肌肤失养; 外不能宣泄, 内不能利导, 气血不畅阻于肌表而生。赤参丹具有活血化瘀、疏风理气的功效, 方中丹参为主药, 而丹参的水溶性酚酸类成分如丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 等是其药材中药效物质的基础, 其中丹酚酸 B 含量最高, 且具有纤溶、增加冠脉血流量等作用, 故选用丹酚酸 B 的含量来控制该制剂的质量具有一定的意义。

丹酚酸 B 的含量测定曾选用甲醇、75% 甲醇及 75% 乙醇分别考察了回流提取和超声提取<sup>[4]</sup>, 结

果 75% 甲醇提取的药物含量最高; 而回流提取与超声提取方法比较中, 因为丹酚酸 B 对热不稳定, 所以采用了超声提取, 同时辅以循环水浴降温的方法; 进一步考察不同提取时间(20, 30, 40, 50 min) 对药物含量的影响, 发现只需要超声提取 30 min 即可将本品中丹酚酸 B 提取完全。

用高效液相色谱法测定赤参丹中丹酚酸 B 含量, 经方法学考察, 证明方法准确、灵敏、快速, 可作为赤参丹质量控制的指标之一。

## REFERENCES

- [1] Ch.P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005: 52.

- [2] ZHANG Q W, ZHANG Y, LI J P, et al. Determination of salvianolic acid B in the Radix of *Salvia miltiorrhiza* Bge. by HPLC [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2001, 26(12): 848-849.
- [3] LIU C G, DONG C P, WANG F W. HPLC determination of salvianolic acid B in Xueshuan xinmaining tablet [J]. Res Inf

Tradit Chin Med(中药研究与信息), 2005, 7(12): 19-20.

- [4] NI L J, SHI X H, GAO X J, et al. Study of effect of extracting time and solvent on the quality of extract of *Salvia Miltiorrhiza* Bunge [J].Chin Tradit Pat Med(中成药), 2003, 25(10): 780-782.

收稿日期: 2008-09-11