

HPLC 法测定脑通颗粒中丹酚酸 B

贾桂艳¹, 马莉^{2*}, 韩锋², 杨春辉³

1. 深圳太太药业有限公司, 广东 深圳 518057
2. 天津药物研究院, 天津 300193
3. 天津大学 化工学院, 天津 300072

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定脑通颗粒中丹酚酸 B。方法 采用迪马色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-乙腈-甲酸-水溶液 (30:10:0.5:59.5) 为流动相; 检测波长 286 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 10 μL。结果 丹酚酸 B 在 0.441 6~2.208 0 μg 线性关系良好 ($r=0.999 7$), 样品的平均回收率为 98.65%, RSD 为 1.71%。结论 本法重现性好、稳定可靠, 可作为脑通颗粒的质量控制方法。

关键词: 脑通颗粒; 丹参; 丹酚酸 B; 高效液相色谱

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)02-0142-03

Determination of salvianolic acid B in Naotong Granula by HPLC

JIA Gui-yan¹, MA Li², HAN Feng², YANG Chun-hui³

1. Shenzhen Taitai Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518057, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. School of Chemical Engineering Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: **Objective** To establish a method for HPLC determination of salvianolic acid B in Naotong Granula. **Methods** The condition for HPLC was Diamonsil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with methanol-acetonitrile-formic acid-water (30:10:0.5:59.5) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 40 °C. The injection volume was 10 μL, and detection wavelength was 286 nm. **Results** The linear range was of 0.441 6—2.208 0 μg for salvianolic acid B and the correlation coefficient was 0.999 7. The average recovery was 98.65% with RSD 1.71%. **Conclusion** The method is reproducible, reliable, and can be used for quality control of Naotong Granula.

Key words: Naotong Granula; *Salviae Miltiorrhizae Radix*; salvianolic acid B; HPLC

脑通颗粒来源于中医专家的临床经验方, 临床应用多年, 疗效显著。脑通颗粒主要由丹参、郁金、生地等组成, 具有活血化瘀、通痹安神之功效, 临床上用于治疗脑卒中等症。临床应用时多煎煮成汤剂口服, 故难以监控其质量。丹酚酸 B 是君药丹参中主要的水溶性活性成分^[1], 具有抗血栓, 改善血液循环, 抗氧化等作用^[2-4], 并且此成分在脑通颗粒中的量较高, 测定时的紫外检测灵敏度高, 故本实验采用高效液相色谱法测定方中君药丹参的有效成分丹酚酸 B, 以控制制剂的质量。

1 仪器与试剂

HP1100 液相色谱仪; HP1100 色谱工作站;

G1310 泵; G1313A 自动进样器; G1316A 柱温箱; G1314A 紫外检测器。

丹酚酸 B 对照品 (批号 1562-200504) 购自中国药品生物制品检定所, 归一化法测定其质量分数为 98% 以上; 甲醇、乙腈为色谱纯, 甲酸为分析纯, 水为纯净水。脑通颗粒样品和阴性样品由深圳太太药业股份有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

迪马色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-乙腈-甲酸-水溶液 (30:10:0.5:59.5) 为流动相; 检测波长 286 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温

收稿日期: 2011-01-05

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAI41B06)

作者简介: 贾桂艳 (1971—) 女, 工程师, 主要研究方向: 新产品工艺研究、质量标准制订、新产品筛选以及专利申请。

*通讯作者 马莉 Tel: 13920788162 E-mail: zhihua504@163.com

40 ℃；进样量 10 μL。理论塔板数以丹酚酸 B 计不低于 5 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称量丹酚酸 B 对照品适量，加甲醇制成 0.1 mg/mL 对照品溶液，即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 1.5 g，精密称定，置 100 mL 具塞三角瓶中，精密加入 50% 甲醇 100 mL，超声处理 30 min，冷却至室温，定容，再精密吸取 5 mL 置 10 mL 具

塞三角瓶中，加 50% 甲醇至刻度，即得。

2.4 阴性溶液的制备

取缺丹参的阴性样品 1.5 g，精密称定，按供试品溶液的制备项下方法操作，即得。

2.5 专属性试验

取丹酚酸 B 对照品、脑通颗粒样品和阴性样品，分别制备溶液，进样测定，结果在上述色谱条件下，阴性样品无干扰，脑通颗粒中丹酚酸 B 与其他组分达到基线分离，证明此色谱条件可行。见图 1。

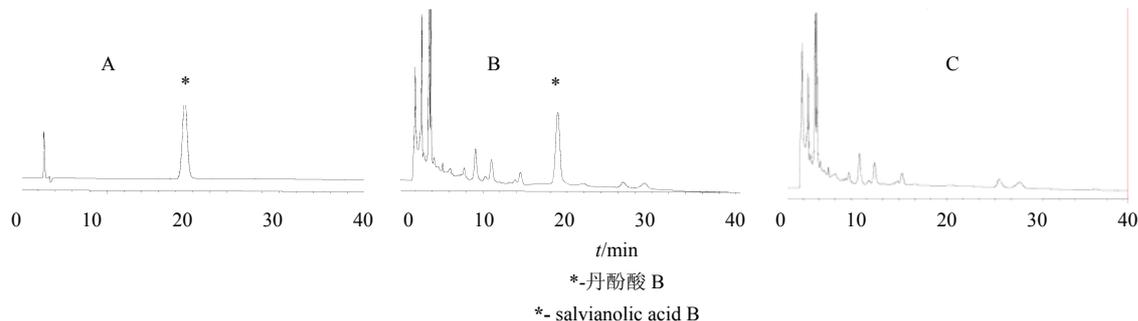


图 1 丹酚酸 B 对照品 (A)、脑通颗粒样品 (B) 和阴性样品 (C) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of salviaolic acid B reference substance (A), Naotong Granula (B), and negative sample (C)

2.6 标准曲线的制备

精密称取丹酚酸 B 对照品 11.04 mg，置 50 mL 量瓶中，加甲醇超声溶解并稀释至刻度，摇匀，配制成质量浓度为 220.8 μg/mL 的对照品贮备液。分别吸取上述对照品溶液 2、4、5、6、8 mL 置 10 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度。分别取上述溶液各 10 μL 进样，测定峰面积。以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标作图，绘制标准曲线。结果表明，进样量在 0.441 6~2.208 0 μg 时，呈良好的线性关系。其回归方程为 $Y=1\ 163.5 X+8.464\ 3$ ， $r=0.999\ 7$

2.7 精密度试验

取批号 070301 的脑通颗粒样品，制备供试品溶液，重复进样 6 次，每次进样 10 μL，记录丹酚酸 B 峰面积，计算，结果其 RSD 为 0.56%。

2.8 重现性试验

取批号 070301 的脑通颗粒样品 6 份，制备供试品液，进样测定，计算丹酚酸 B 的质量分数，结果其 RSD 为 0.47%。

2.9 稳定性试验

取批号 070301 的脑通颗粒样品，制备供试品溶液，分别于 2、4、6、8、10 h 进样测定，记录丹酚酸 B 峰面积，计算得 RSD 为 1.32%，表明样品溶液在 10 h 内稳定。

2.10 回收率试验

精密量取批号 070301 的脑通颗粒样品 9 份，每份 0.75 g，分别加入丹酚酸 B 已知质量的 80%、100%、120% 的丹酚酸 B 对照品，制备供试品溶液，进样测定，计算回收率，结果平均回收率为 98.65%，RSD 为 1.71%。

2.11 样品测定

取不同批号的脑通颗粒，制备供试品溶液，按上述色谱条件进样测定，以外标法计算脑通颗粒中丹酚酸 B，结果见表 1。

表 1 脑通颗粒中丹酚酸 B 的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of salviaolic acid B in Naotong Granula (n=3)

批号	丹酚酸 B/(mg·g ⁻¹)
070301	17.56
070302	17.64
070303	17.45

3 讨论

由于丹酚酸 B 为酸性化合物，流动相中不加酸会产生拖尾现象，故在流动相中加入酸来改善分离效果，同时根据有关文献报道^[5-7]，选择了甲酸，最终确定了本实验的流动相，使丹酚酸 B 达到理想的

分离效果。

丹酚酸B的热不稳定性和易降解特性使其不宜用回流提取^[8]。因此本实验采用超声提取。另外还考察了30%甲醇、50%甲醇、80%甲醇、甲醇4种溶剂分别超声提取30 min以及用50%甲醇超声提取15、30、45、60 min时丹酚酸B的提取率。结果显示,50%甲醇超声提取30 min即可将丹酚酸B提取完全。

参考文献

- [1] 张 昀, 刘 路, 李 钦. 丹参中丹酚酸B的提取工艺研究 [J]. 中草药, 2007, 38(8): 1193-1194.
- [2] 李克明, 付桂香. 丹参中丹酚酸B的药理研究进展 [J]. 中日友好医院学报, 2008, 22(6): 366-367.
- [3] 刘 杰, 高秀梅, 王 怡, 等. 丹酚酸B对急性心肌缺血大鼠血流动力学的影响及作用分子机制研究 [J]. 中草药, 2006, 37(3): 409-412.
- [4] 尹 华, 章建华, 董晓焯, 等. 反相高效液相色谱法测定骨健口服液丹酚酸B的含量 [J]. 医药导报, 2006, 25(8): 824-825.
- [5] 李自强, 刘志东, 顾 慧, 等. 药物溶出/吸收仿生系统研究丹酚酸B缓释片释放规律 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(5): 367-373.
- [6] 原文鹏, 刘林娜, 邓少伟, 等. 丹参中丹酚酸B的含量测定 [J]. 湖南中医杂志, 2004, 20(4): 81.
- [7] 万仁忠, 许妍妍, 谷 元, 等. 丹酚酸B及其活性代谢产物在大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 335-339.
- [8] 刘德茂, 史德胜. 双丹口服液丹酚酸B和丹参素的稳定性研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2): 102-104.

中草药杂志社4种期刊为允许刊载处方药广告的

第一批医药专业媒体

据国家食品药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知, 中草药杂志社编辑出版的《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4本期刊作为第一批医药专业媒体, 允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。