

标成分的质量—残余药液中目标成分的质量)/树脂干质量]表示大孔吸附树脂的吸附量,结果见表 1。以丹参总酚酸为指标和以丹酚酸 B 为指标所得吸附量的大小排序基本一致,淘汰 HPD-100 与 D301 两个吸附量较小的树脂,将其余 5 种型号树脂做进一步的分离度考察。

表 1 最大比吸附值的考察

Table 1 Maximun value of adsorption

树脂型号	最大比吸附值/(mg·g ⁻¹)	
	丹酚酸 B	丹参总酚酸
NKA	24.68	73.02
AB-8	27.23	77.57
HPD-100	19.42	59.41
HPD-600	21.67	61.32
D-101	20.60	61.98
D-201	28.73	83.46
D-301	20.27	59.62

2.7 解吸附的考察:称取等量 AB-8、NKA、HPD-600、D-101、D-201 树脂,装柱。取 5 份等量的丹参水提醇沉后的浓缩液通过大孔吸附树脂,用水洗至流出液无 α -萘酚反应后,然后分别用 20%、40%、60%、80%乙醇洗脱,洗脱液浓缩干燥,测定其中丹参总酚酸的质量,结果见表 2。结果表明 AB-8 树脂为最适合丹参总酚酸纯化的树脂型号。

2.8 洗脱液乙醇体积分数的考察:根据前期试验结果,水洗总酚酸的量为整个洗脱总量的 7.0%,20%乙醇洗脱量为 76.7%,40%乙醇洗脱量为 15.0%,60%乙醇洗脱量为 0.4%,80%乙醇洗脱量为 0.9%,结果表明 20%乙醇能将大部分总酚酸洗脱下来,60%、80%乙醇洗脱部分目标成分的量很少,

表 2 不同型号树脂解吸附值的考察

Table 2 Value of deadsorption by different kinds of resins

树脂型号	不同溶剂洗脱所得丹参总酚酸的质量/mg				
	水	20%乙醇	40%乙醇	60%乙醇	80%乙醇
NKA	19.81	49.22	9.22	1.58	0.47
AB-8	5.58	60.87	11.93	0.33	0.64
D-101	16.52	48.17	12.49	0.68	0.95
D-201	23.98	38.93	9.37	3.03	0.77
HPD-600	14.16	55.59	9.85	0.38	0.57

为将丹参总酚酸洗脱完全,试验选择 40%乙醇作为洗脱剂。

通过以上实验优筛出最佳型号的大孔树脂及洗脱溶剂,进行丹参总酚酸的分离纯化,得到丹参总酚酸质量分数为 80%以上。

3 讨论

NKA、D-101、HPD-100、AB-8 为非极性或弱极性的大孔树脂,S-8、NKA-9 为极性的大孔树脂。不同极性的大孔树脂对于有效成分和有效部位的吸附能力不同,因此进行大孔树脂型号的选择很重要,要选择吸附能力强、解吸附效果好的树脂。

大孔吸附树脂的生产和应用还处于发展阶段,关于药用树脂的开发工作还在研究中,应加强有关大孔树脂的基础研究及质量标准的建立,以确保发挥大孔树脂在新药研发中的重要作用。

感谢北京大学医学部屠鹏飞教授给予的指导;长春中医药大学赵晶丽同学参与部分工作。

参考文献:

- [1] 屠鹏飞 贾存勤 张洪全. 大孔吸附树脂在中药新药研究和生产中的应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化高新技术应用, 2004, 6(3): 22-28.

RP-HPLC 法测定乌鸡白凤丸中丹参酮 II_A

乔艳玲,梁春华*,邵文

(吉林省食品药品检验所,吉林 长春 130033)

乌鸡白凤丸由乌鸡(去毛爪肠)、鹿角胶、鳖甲(制)、牡蛎(煅)、桑螵蛸、人参、黄芪、当归、白芍、香附(醋制)、熟地黄、川芎、银柴胡、丹参、山药等 20 味中药组成,具有补气养血、调经止带之功效,对于气血两虚,身体瘦弱,腰膝酸软,月经不调,崩漏带下有较好的疗效。方中丹参含有丹参酮 I、II_A、II_B,异丹

参酮 I、II_A,隐丹参酮、异隐丹参酮、甲基丹参酮、羟基丹参酮等,具有活血祛瘀,月经不调,痛经,经闭,血崩带下,瘀血腹痛,与此制剂的功效密切相关。为了更好地控制产品的内在质量,本实验采用 HPLC 法对方中丹参酮 II_A 建立了测定方法,为完善该制剂质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

岛津 LC—10T 全自动液相色谱仪,岛津 SPD—10A 紫外检测器,CLass-vp 色谱工作站;为丹参酮 I_A 对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 0766-200112);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的确定:取丹参酮 I_A 对照品溶液,于紫外分光光度计在 200~500 nm 波长进行扫描,结果在 270 nm 波长处有最大吸收,并参考《中国药典》2005 年版一部收录的丹参测定项下,确定 270 nm 为本法的测定波长。

2.2 色谱条件:色谱柱为 Capcell PAK GM C₁₈ (250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(75:25);体积流量:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长为 270 nm。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取丹参酮 I_A 对照品 5.65 mg 置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,再精密吸取 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。

2.4 供试品溶液的制备:取本品,研细,精密称取 15 g,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 40 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.5 阴性对照溶液的制备:按本品的处方、制法制备缺少丹参的模拟样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.6 空白试验:取丹参酮 I_A 对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液分别注入液相色谱仪,进行测定。可见供试品溶液和对照品溶液在相应保留时间位置上出现相似峰,而阴性对照溶液则无明显其他峰出现(图 1)。

2.7 标准曲线的制备:精密称取丹参酮 I_A 对照品 5.65 mg 置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,再精密吸取 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得 90.40 μg/mL 丹参酮 I_A 对照品溶液。分别取 2、6、10、14、18 μL 进样测定,记录峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,制备标准曲线,得回归方程 $Y=5\ 617+7\ 597\ 91\ X$, $r=1.000$ 。结果显示丹参酮 I_A 在 18.08~162.7 ng 与峰面积呈良好的线性关系。

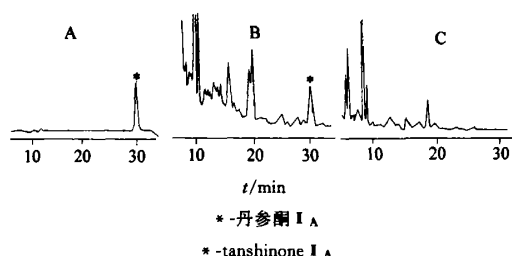


图 1 丹参酮 I_A 对照品(A)、乌鸡白凤丸(B)和阴性溶液(C)的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC Chromatograms of tanshinone I_A reference substance (A), Wuji Baifeng Pills (B), and negative sample (C)

2.8 精密度试验:取 90.40 μg/mL 丹参酮 I_A 对照品溶液,连续进样 5 次,每次 10 μL,测得峰面积,计算得其 RSD 为 0.48%。

2.9 稳定性试验:精密吸取供试品溶液,分别于 0、4、8、12、24 h 测定丹参酮 I_A 峰面积,结果其 RSD 为 0.63%,表明供试品溶液在制备后 24 h 内较稳定。

2.10 重现性试验:取批号为 20041008 样品 5 份,精密称定,分别制备供试品溶液,进样测定,计算得丹参酮 I_A 的平均质量分数为 20 μg/g,RSD 为 1.35%。

2.11 回收率试验:取批号为 20041008 的样品适量,共 6 份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入 1 mL 0.2260 mg/mL 丹参酮 I_A 对照溶液,制备供试品溶液,进行测定,计算得平均回收率为 100.6%,RSD 为 2.08%。

2.12 样品测定:取 10 批样品,制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,采用外标法计算丹参酮 I_A 的质量分数,结果见表 1。

表 1 乌鸡白凤丸中丹参酮 I_A 的测定结果

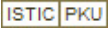
Table 1 Determination of tanshinone I_A in Wuji Baifeng Pills

批 号	丹参酮 I _A /(μg·g ⁻¹)	批 号	丹参酮 I _A /(μg·g ⁻¹)
20041008	20.0	20041102	18.0
20041006	21.1	20041103	21.7
20041005	21.6	20041201	22.2
20041004	19.8	20041201	18.9
20041101	18.6	20071203	17.3

3 讨论

参考《中国药典》2005 年版一部收录的丹参测定中用甲醇回流 1 h 与用甲醇 50 min,提取率没有显著差别,故本实验采用甲醇超声提取。

RP-HPLC法测定乌鸡白凤丸中丹参酮IIA

作者: [乔艳玲](#), [梁春华](#), [邵文](#)
作者单位: [吉林省食品药品检验所, 吉林, 长春, 130033](#)
刊名: [中草药](#) 
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (6)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806023.aspx