

表 1 正交试验设计和结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号	A/MPa	B/K	C/(mL·min ⁻¹)	D/(g·min ⁻¹)	提取率/%
1	20	308.15	1	15	0.091
2	20	318.15	2	20	0.201
3	20	323.15	3	25	0.295
4	20	328.15	4	30	0.371
5	30	308.15	2	25	0.293
6	30	318.15	1	30	0.129
7	30	323.15	4	15	0.375
8	30	328.15	3	20	0.347
9	35	308.15	3	30	0.349
10	35	318.15	4	25	0.391
11	35	323.15	1	20	0.201
12	35	328.15	2	15	0.345
13	40	308.15	4	20	0.368
14	40	318.15	3	15	0.349
15	40	323.15	2	30	0.308
16	40	328.15	1	25	0.213
K ₁	0.2395	0.2753	0.1585	0.2900	
K ₂	0.2860	0.2675	0.2868	0.2793	
K ₃	0.3215	0.2948	0.3350	0.2980	
K ₄	0.3095	0.3190	0.3763	0.2893	
R	0.0700	0.0515	0.2178	0.0188	

MPa, 温度 328.15 K, 夹带剂流量 4 mL/min, CO₂ 流量 25 g/min, 各影响因素对提取率的影响程度: 夹带剂流量 > 压力 > 温度 > CO₂ 流量; 冬凌草甲素的提取率可达到 0.402%, 优于文献中报道的 0.39% 的提取率。

参考文献:

- [1] 吴孔明, 张覃沐, 王庆端, 等. 冬凌草甲素对肿瘤细胞钠泵活性的影响[J]. 中国药理学报, 1987, 8(3): 271.
- [2] 葛 铭, 马用法, 张中兴, 等. 冬凌草甲素和乙素对人体肝癌 BEL-7402 细胞株杀伤作用的研究[J]. 药学通报, 1981, 16(5): 6.
- [3] 耿中峰, 吕惠生, 张敏华. 石蒜中加兰他敏的超临界 CO₂ 萃取工艺研究[J]. 中草药, 2008, 39(4): 543-546.
- [4] 徐晓芳, 吕惠生, 张敏华, 等. 超临界 CO₂ 萃取烟叶中茄尼醇的影响因素分析[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1504-1505.
- [5] 于恩平, 朱美文, 方之蓉, 等. 关于超临界萃取过程中使用夹带剂的研究[J]. 化学工程, 1989, 17(4): 21-24.
- [6] 肖观秀. 超临界萃取技术提取石蒜中加兰他敏的工艺研究[D]. 天津: 天津大学, 2005.
- [7] 邢 洁, 张典瑞, 张学顺, 等. 超临界 CO₂ 萃取-柱色谱分离联用制备冬凌草甲素新工艺的研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(23): 1804-1807.

高效液相色谱-二极管阵列检测法测定冠心宁注射液中丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸和丹酚酸 B

张 雪, 褚文静, 刘伟娜, 侯海妮, 黄喜茹*

(河北医科大学药学院 分析化学教研室, 河北 石家庄 050017)

摘 要: 目的 建立高效液相色谱-二极管阵列检测法同时测定冠心宁注射液中丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸和丹酚酸 B 6 种水溶性成分。方法 采用 Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-5%冰醋酸, 进行梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 20 μL; 柱温 30 °C; 检测波长 286 nm。结果 在此色谱条件下 6 种水溶性成分可完全分离。丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸和丹酚酸 B 的线性范围分别为 87.68 ~ 438.40 ng ($r = 0.9993$), 29.68 ~ 148.40 ng ($r = 0.9997$), 14.03 ~ 70.16 ng ($r = 1.0000$), 30.40 ~ 152.00 ng ($r = 0.9999$), 103.70 ~ 518.40 ng ($r = 0.9996$), 193.20 ~ 966.00 ng ($r = 0.9996$)。平均回收率丹参素为 98.2% (RSD 为 0.27%), 原儿茶酸为 98.4% (RSD 为 1.2%), 原儿茶醛为 99.2% (RSD 为 1.3%), 阿魏酸为 98.9% (RSD 为 0.96%), 迷迭香酸为 98.1% (RSD 为 0.82%), 丹酚酸 B 为 99.3% (RSD 为 0.31%)。结论 该方法简单、准确、重现性好, 可用于冠心宁注射液的质量控制。

关键词: 冠心宁注射液; 丹参素; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 阿魏酸; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 高效液相色谱; 二极管阵列检测
中图分类号: R286.02 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)02-0234-03

冠心宁注射液具有活血化瘀、通脉养心、扩张冠脉增加冠脉血量、加速缺血心肌修复、促进梗死区心肌再生、解除微血管痉挛, 改善微循环, 抑制血小板聚集、抗血栓形成、抗氧化及保护心脏微血管内皮细

胞等作用, 临床用于冠心病、心绞痛、脑栓塞等心脑血管疾病、肺脏、肝脏、肾脏等疾病的治疗。处方中含丹参和川芎, 丹参为该制剂的君药。制剂中有效成分主要为丹参的水溶性成分丹参素、原儿茶酸、原

* 收稿日期: 2009-04-26

基金项目: 河北省中医药局资助项目(05057); 河北省科技厅科技项目(062761372)

作者简介: 张 雪(1984—), 女, 河北邯郸人, 在读硕士研究生, 从事药物分析研究。E-mail: zhangxuedd@sina.com

* 通讯作者 黄喜茹 Tel: (0311) 86265623 E-mail: hxiru@163.com

儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B 以及川芎中的阿魏酸等^[1]。已报道有以该制剂中丹参素和原儿茶醛作为质量控制指标,采用 HPLC 法进行定量^[2]。本实验采用高效液相色谱-二极管阵列检测法同时测定制剂中丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸和丹酚酸 B 6 种活性成分,该法简单、准确、重现性好,适于全面评价冠心宁注射液的质量。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 全自动高效液相色谱仪(二极管阵列检测器、四元泵、柱温箱、自动控温进样器), Agilent 化学工作站,JA1203A 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TCQ-250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂)。

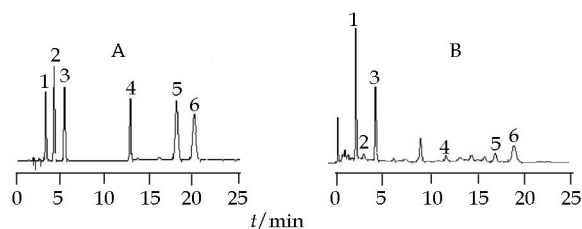
丹参素钠(批号 110855-200405)、原儿茶酸(批号 110809-200503)、原儿茶醛(批号 110810-200506)、阿魏酸(批号 111581-200302)、丹酚酸 B(批号 111562-200504)对照品均由中国药品生物制品检定所提供,迷迭香酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,质量分数在 98%以上),甲醇为进口色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为重蒸水。

冠心宁注射液为市售品,10 mL/支,分别为山西瑞福莱药业有限公司(批号 06032212)、石家庄神威药业股份有限公司(批号 0801092、08041101)生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验:Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-5%冰醋酸(B),进行梯度洗脱,0~6 min,30% A,6~10 min,A 线性改变至 40%,10~30 min,40% A;停止时间 30 min,后运行 10 min;体积流量:1.0 mL/min;进样方式:自动进样,进样体积:20 μL;柱温:30℃;检测波长:286 nm。理论塔板数按丹参素计算不低于 6 000,按原儿茶醛计算不低于 8 000,各组分与相邻色谱峰的分度均大于 1.5,且各组分的色谱峰对称,色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:分别精密称取丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸和丹酚酸 B 对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,用 20%甲醇溶解并稀释至刻度,配制成质量浓度分别为 109.6、148.4、35.08、152.0、129.6、193.2 μg/mL 的对照品储备液。分别精密吸取上述对照品储备液 0.40、0.10、0.20、0.10、0.40、0.50 mL 置 10 mL 量瓶中,用 20%甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度分别为 4.384、1.484、0.7016、1.520、5.184、9.660 μg/mL 的混合对照品溶液。



1-丹参素 2-原儿茶酸 3-原儿茶醛 4-阿魏酸
5-迷迭香酸 6-丹酚酸 B

1-danshensu 2-protocatechuic acid 3-protocatechuic aldehyde
4-ferulic acid 5-rosmarinic acid 6-salvianolic acid B

图 1 对照品(A)和冠心宁注射液(B)的 HPLC-DAD 色谱图

Fig 1 HPLC-DAD Chromatograms of reference substances (A) and Guanxinling Injection (B)

2.3 供试品溶液的制备:精密量取冠心宁注射液 0.5 mL,置 25 mL 量瓶中,用 20%甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系的考察:取混合对照品溶液过 0.45 μm 滤膜后,按上述色谱条件分别进样 10、20、30、40、50、60、70、80、90 μL,记录色谱峰面积,以峰面积(A)对进样量(C)进行线性回归,得各组分的回归方程和相关系数,见表 1。

表 1 回归方程和相关系数

Table 1 Regression equation and correlation coefficients

成分	回归方程	相关系数	线性范围/ng
丹参素	$A = 406.04 C - 0.4994$	0.9993	87.68~438.40
原儿茶酸	$A = 1712.80 C - 2.7878$	0.9997	29.68~148.40
原儿茶醛	$A = 3300.40 C + 0.2706$	1.0000	14.03~70.16
阿魏酸	$A = 1519.60 C + 1.4039$	0.9999	30.40~152.00
迷迭香酸	$A = 735.28 C + 1.5778$	0.9996	103.70~518.40
丹酚酸 B	$A = 230.29 C + 0.7250$	0.9996	193.20~966.00

2.5 检测限的测定:取混合对照品溶液逐步稀释后,注入高效液相色谱仪,以峰高为基线噪音 3 倍计,丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 的最低检测浓度分别为 2.4、0.6、0.3、0.6、1.3、4.2 μg/mL。

2.6 精密度试验:按上述色谱条件,取混合对照品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,连续进样 5 次,结果丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 0.35%、0.085%、0.16%、0.52%、0.23%、0.55%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液(批号 06032212),在 2、4、6、8、10、12、24 h 分别进样 20 μL,记录峰面积,计算,结果丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 0.25%、1.5%、0.36%、0.58%、1.00%、0.53%。

2.8 重现性试验:取同一批号注射液(批号 06032212),制备 5 份供试品溶液,各进样 20 μL,进样测定,计算得丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏

酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 的平均质量浓度分别为 2.907 mg/mL (RSD 为 0.25%)、0.162 2 mg/mL (RSD 为 0.64%)、0.450 5 mg/mL (RSD 为 0.35%)、0.129 9 mg/mL (RSD 为 0.83%)、0.285 6 mg/mL (RSD 为 0.73%)、0.575 9 mg/mL (RSD 为 0.52%)。

2.9 回收率试验:精密量取 0.5 mL 批号 08041101 冠心宁注射液 3 份,置 5 mL 量瓶中,分别加入混合对照品溶液 1.6、1.8、2.0 mL,用 20% 甲醇加至刻度,摇匀。在上述色谱条件下,分别进样 20 μ L,每个加入量的溶液均连续进样 3 次,计算加样回收率,

表 2 冠心宁注射液中有有效成分的测定结果 ($n=5$)

Table 2 Determination of components in Guanxinling Injection ($n=5$)

样品 生产厂	批号	丹参素		原儿茶酸		原儿茶醛		阿魏酸		迷迭香酸		丹酚酸 B	
		质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	RSD/ %
山西	06032212	2.900	0.25	0.163 2	1.5	0.449 2	0.36	0.124 8	0.58	0.2851	1.00	0.5741	0.53
石家庄	0801092	6.246	0.09	0.201 1	1.3	0.400 5	0.49	0.114 8	0.93	0.099 4	0.56	0.6422	0.65
石家庄	08041101	4.677	0.06	0.080 4	1.6	0.421 6	0.09	0.112 0	0.49	0.477 3	0.62	4.019	0.10

3 讨论

经二极管阵列检测器对 6 种成分进行全波长扫描,丹参素和原儿茶醛的最大吸收波长为 281 nm,原儿茶酸最大吸收波长为 260 nm,阿魏酸在 320 nm 有较强吸收,迷迭香酸的最大吸收波长为 330 nm,丹酚酸 B 的最大吸收波长为 286 nm。本实验考察了采用不同检测波长时检出的信号强度和检测灵敏度,结果在 286 nm 各组分信号较强,且基线稳定,因此采用 286 nm 为检测波长。

结果丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 的平均加样回收率分别为 98.2% (RSD 为 0.27%)、98.4% (RSD 为 1.2%)、99.2% (RSD 为 1.3%)、98.9% (RSD 为 0.96%)、98.1% (RSD 为 0.82%)、99.3% (RSD 为 0.31%) ($n=9$)。

2.10 样品的测定:取冠心宁注射液样品溶液,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样,用外标法计算各成分的质量浓度,结果见表 2。从结果可见,不同厂家、不同批号的原儿茶醛和阿魏酸的质量浓度接近,但其他 4 种成分相差较大,说明该注射液的质量标准有待进一步规范。

文献报道^[3],丹参素在高体积分数醇溶液中不

稳定,极易分解,建议用水溶解丹参素和原儿茶醛。为了能够使样品溶液性质与流动相尽量相近而不影响出峰效果,本实验采用 20% 甲醇溶解对照品。

参考文献:

- [1] 郑虎占. 中药现代化研究与应用[M]. 北京:学苑出版社, 1997.
- [2] 曹冬,黄喜茹,刘伟娜,等. 反相高效液相色谱法测定冠心宁注射液中的丹参素和原儿茶醛[J]. 色谱,2006,24(5):533.
- [3] 关大卫. HPLC 法测定注射用丹参粉针中丹参素的含量[J]. 药物分析杂志,1994,14(3):36-37.

HPLC-ELSD 法测定银杏滴丸中银杏内酯 A、B、C 和白果内酯

高 蓓*

(天津市第一中心医院 药剂科,天津 300192)

摘要:目的 采用高效液相-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法测定银杏滴丸中银杏内酯 A、B、C 及白果内酯。方法 样品以甲醇溶解,蒸干后水溶,醋酸乙酯提取处理。采用 HPLC-ELSD 法测定,ALLtech C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.5 mm,5 μ m);流动相:甲醇-四氢呋喃-水(35:10:65);体积流量:0.8 mL/min;流速:2.85 L/min;漂移管温度:105 $^{\circ}$ C;柱温:30 $^{\circ}$ C。结果 银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的平均加样回收率分别为 98.5%、103.5%、99.7%、101.6%,RSD 分别为 2.5%、1.9%、2.8%、2.0%。结论 建立的滴丸制剂中银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的定量方法可行性好、简便、可靠。

关键词:银杏滴丸;银杏内酯 A、B、C;白果内酯;HPLC-ELSD

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2010)02-0236-03

* 收稿日期:2009-06-20

作者简介:高 蓓(1977—),女,河北省故城县人,药师,毕业于天津中医药大学中药专业,现工作于天津市第一中心医院药学部。

E-mail:gaojiabei@hotmail.com