

HPLC 法测定荔枝核方中丹参素

曲世为, 冯婉玉*

(中国医科大学附属第一医院 临床药理教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定荔枝核方中丹参素。**方法** SinoChrom ODS-BP 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-1% 醋酸溶液 (5:95), 柱温为室温, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm。**结果** 丹参素在 9.54~95.4 μ g/mL 线性关系良好, $r=0.999\ 6$; 平均回收率为 100.2% (RSD=1.8%, $n=9$)。**结论** 该方法操作简便, 其他组分对测定无干扰, 准确性和重现性好, 可作为荔枝核方的质量控制方法。

关键词: 荔枝核方; 丹参素; HPLC; 质量控制

中图分类号: R927.11

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)06-0463-03

Determination of propanoid acid in *Semen Litchi* Compound by HPLC

QU Shi-wei, FENG Wan-yu

(Department of Clinical Pharmacology, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To establish a method for determining the content of propanoid acid by HPLC. **Methods** The HPLC performed on a SinoChrom ODS-BP column (200 mm×4.6 mm, 5 μ m), mobile phase consisted of methanol-1% acetic acid (5:95), column temperature was room temperature, flow rate was 1.0 mL/min, detection wavelength was 280 nm. **Results** The calibration curve was linear in the range of 9.54—95.4 μ g/mL with good linearity ($r=0.999\ 6$). The average recovery was 100.2% (RSD=1.8%, $n=9$). **Conclusion** The method is convenient, reliable, accurate and repeatable, and can be used in quality control of *Semen Litchi* Compound.

Key word: *Semen Litchi* Compound; propanoid acid; HPLC; quality control

荔枝核方为中国医科大学附属第一医院院内制剂 (颗粒剂), 具有益气滋阴、活血祛瘀的功效, 治疗子宫肌瘤疗效确切, 尚未发现明显不良反应。该复方由荔枝核、丹参、土鳖虫、鳖甲、莪术、赤芍、乌药、水蛭、党参、甘草等 10 味中药煎制而成, 是依据子宫肌瘤的中医论述, 针对子宫肌瘤雌激素依赖性疾病的表现, 制成的符合益气滋阴、活血祛瘀治则的方剂。近年来, HPLC 法被广泛应用于中药及其制剂的质量控制中^[1-5], 为了控制荔枝核方质量, 本实验采用 HPLC 法测定该方中的丹参素。

1 仪器与材料

1.1 仪器

大连依利特高效液相色谱仪, LIV230+紫外-

可见检测器, EC2000 色谱数据处理系统; DT500 型电子分析天平 (常熟市衡器厂); 超声波清洗仪 (上海科导超声仪器有限公司); 0.45 μ m 滤膜。

1.2 药品与试剂

丹参素钠对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110855-200809); 甲醇为色谱纯, 水为二重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。6 批样品按处方和制备工艺自制而成, 批号分别为 100706、100720、100725、100730、100805、100810。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[5]

SinoChrom ODS-BP 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-1%醋酸溶液 (5:95), 柱温

作者简介 曲世为 (1984—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药复方质量标准研究。

* **通讯作者** 冯婉玉, 教授。Tel: 024-83282155, E-mail: fengwanyu2000@yahoo.com.cn

为室温, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 进样量 20 μ L, 理论塔板数按丹参素峰计不低于 5 000。在此条件下, 丹参素能与其他组分达到基线分离。

2.2 供试品溶液的制备

取样品 1.5 g, 精密称定, 加入氯仿 30 mL, 超声 15 min, 弃去氯仿层, 重复操作 1 次, 加入甲醇 20 mL, 超声 15 min, 滤过, 重复操作 1 次, 合并滤液, 定容至 50 mL, 摇匀, 经 0.45 μ m 滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取丹参素钠对照品 5.3 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成 106 μ g/mL 丹参素钠溶液, 即为 95.4 μ g/mL 丹参素对照品溶液。

2.4 专属性试验

照本品处方及生产工艺制备缺丹参的阴性对照品, 同“2.2”项下方法制备阴性对照品溶液。

按“2.1”项下色谱条件测定, 结果显示供试品丹参素色谱峰的保留时间与对照品的一致, 阴性对照品在相应保留时间处没有色谱峰, 表明其他成分对样品中丹参素的测定无干扰(图1)。

2.5 线性关系考察

精密吸取对照品溶液, 加甲醇分别制成 9.54、19.08、38.16、57.24、76.32、95.4 μ g/mL 丹参素系列对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱峰面积。以峰面积积分值为纵坐标(Y), 丹参素质量浓度为横坐标(X), 进行线性回归, 得回归方程 $Y=0.1370X+5.8604$ ($r=0.9996$)。结果表明丹参素在 9.54~95.4 μ g/mL 呈良好线性关系。

2.6 精密度试验

取 38.16 μ g/mL 丹参素对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 重复 6 次, 记录其峰面积。峰面积积分值的 RSD 为 1.8% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.7 重现性试验

精密称取批号为 100706 的样品适量, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 外标法计算丹参素量; 重复 6 次。丹参素的 RSD 为 1.6% ($n=6$), 表明本方法重现性良好。

2.8 稳定性试验

精密称取批号为 100706 的样品适量, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液; 按“2.1”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录其峰面积, 峰面积积分值的 RSD 为 1.5%, 表明供试品

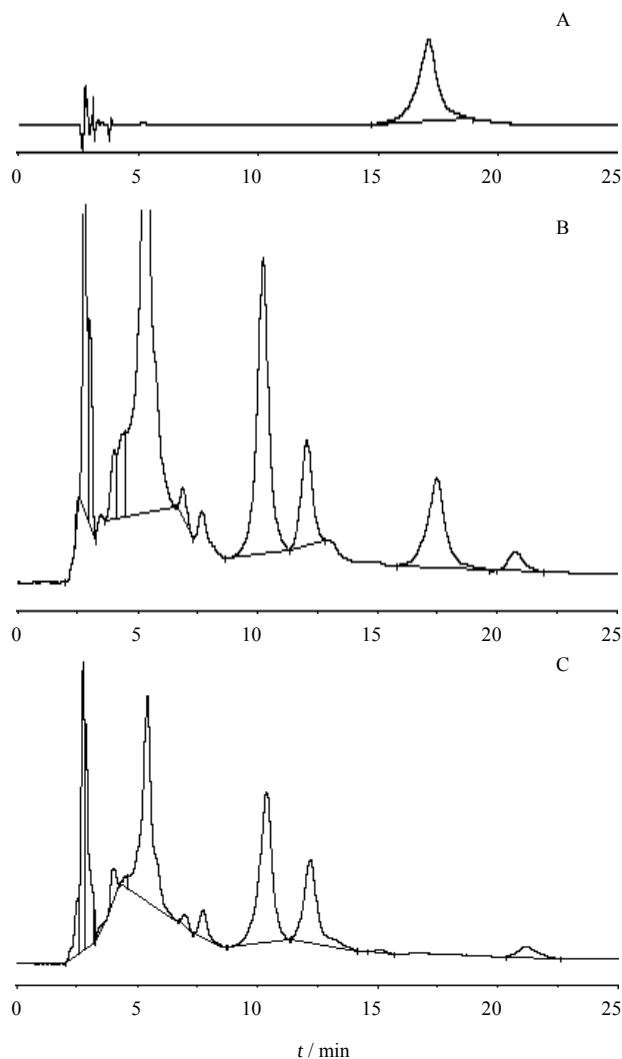


图1 丹参素对照品(A)、荔枝核方供试品(B)、缺丹参的阴性对照品(C)的HPLC图

溶液在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

精密称取已测定的供试品(批号 100706, 含丹参素 1.747 mg/g)适量, 共 9 份, 分别精密加入一定量 95.4 μ g/mL 丹参素对照品溶液, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 外标法计算丹参素量并计算其回收率。结果平均回收率为 100.2%, RSD 为 1.8% ($n=9$)。

2.10 样品测定

按“2.2”项下方法分别制备 6 批样品(批号分别为 100706、100720、100725、100730、100805、100810)的供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 外标法计算样品中丹参素量, 6 批样品中含丹参素分别为 1.747、1.520、1.604、1.585、1.528、1.671 mg/g。

3 讨论

中药复方是一个复杂的体系,具有与单味药不同的性能、独特的疗效和广泛的适用范围。现行中药复方制剂的质量标准正由单成分、单指标的质量控制向多成分、多指标的质量控制转变。以定量简便、准确,阴性对照品无干扰,且检测指标以药材主要成分为依据,从本方筛选出丹参素等几个主要成分为定量指标,对其进行质量控制研究,本实验着重对丹参素进行定量,其他指标尚在研究中。

丹参具有祛瘀止痛、活血通经等功效。荔枝核方具有益气滋阴、活血祛瘀之功效,采用水煎法提取工艺。丹参素为丹参水溶性成分中的主要成分之一,具有抗血栓形成、抗血小板聚集、抗肿瘤等作用^[6-7],对热相对稳定,阴性无干扰,且标准品常见易得,故选择其作为本方的定量指标。

本实验曾以甲醇-水为流动相,结果丹参素峰拖尾现象比较严重;以乙腈-1%冰醋酸(5:95)为流动相,出峰时间较早,但是乙腈的成本较高。通过查阅文献和反复试验,比较了甲醇-1%冰醋酸(15:85)、甲醇-1%冰醋酸(10:90)、甲醇-1%冰醋酸(5:95)、甲醇-1%冰醋酸(2:98)和

1%冰醋酸等不同比例的流动相,结果甲醇-1%冰醋酸(5:95)做流动相时丹参素峰形较好,成本低,且分离效果佳。

该方法操作简便、快速,其他组分对测定无干扰,准确性和重现性好,可作为荔枝核方的质量控制方法。

参考文献

- [1] 赵洪芝,孟宪生,叶挺祥,等.六味地黄丸的HPLC指纹图谱和模式识别研究[J].中草药,2010,41(1):48-51.
- [2] 高蓓.HPLC-ELSD法测定银杏滴丸中银杏内酯A、B、C和白果内酯[J].中草药,2010,41(2):236-238.
- [3] 樊鹏程,李茂星,贾正平,等.RP-HPLC同时测定不同产地独一味药材中4种环烯醚萜苷[J].中草药,2010,41(3):483-485.
- [4] 刘德茂,史德胜.双丹口服液中的丹酚酸B和丹参素的稳定性研究[J].现代药物与临床,2009,24(2):102-104.
- [5] 陈明,王涛.RP-HPLC法测定丹参滴注液中丹参素含量[J].中国民族民间医药,2009,18(7):16-17.
- [6] 高艳.丹参的药理作用[J].中国实用医药,2009,4(14):168-169.
- [7] 赵广荣,田莉莉,王长松.丹参素的抗癌活性研究[J].药物评价研究,2010,33(3):180-182.

(收稿日期 2010-09-16)

中草药杂志社售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM)、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿,欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本:1974—1975年、1976年、1979年、1988—1993年(80元/年),1996、1997年(110元/年),1998年(120元/年),1999年(135元/年),2000年(180元/年),2001—2003年(200元/年),2004年(220元/年),2005年(260元/年),2006—2008年(280元/年),2009—2010年(400元/年)。《中草药》增刊:1996年(50元),1997年(45元),1998年(55元),1999年(70元),2000、2001年(70元),2002—2007年(65元/年),2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。

《现代药物与临床》合订本:2009—2010年(100元/年)。《国外医药·植物药分册》合订本:1996—2008年(80元/年),2006—2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本,每册15.00元。《中文科技资料目录·中草药》:1993—2006年合订本(全套2040元),2007—2008年单行本,每册定价30.00元,全年订价210.00元(6期十年索引)。

天津中草药杂志社

地址:天津市南开区鞍山西道308号

(邮编 300193)

电话:022-27474913 23006821

传真:022-23006821

邮箱:zcy@tiprpress.com

网址:www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com

开户银行:兴业银行天津南开支行

账号:44114010010081504

户名:天津中草药杂志社