

2.6 验证试验:4 kg 圆背角无齿蚌匀浆,在4℃以下用4倍蒸馏水提取1次,醇沉时乙醇体积分数为70%,盐析的氯化钠溶液质量浓度为8%,进行了批样品验证,结果收率分别为0.5%、0.6%、0.575%,含糖量分别为42.84%、45.23%、43.56%。

3 讨论与结论

采用综合加权评分法的分析方法进行评估,进行方差分析得到结果。可以看出不同水平的水提次数、醇沉体积分数、盐溶的氯化钠质量浓度对测定结果影响都不显著。多次提取可以提高收率,但影响不很显著,工时大为延长,效率不高,选择水提1次。盐析的氯化钠溶液质量浓度较低时,提取的有效组分外观、质量较好。通过对数据的直观分析,水提1次,

醇沉的乙醇体积分数为70%,盐溶的氯化钠质量浓度为8%,综合分较高,因此作为最佳工艺。

References:

- [1] Du L X, Yan H F, Hu S G, et al. Studies on antineoplastic activity of HB fraction [J]. *Chin J Marine Drugs* (中国海洋药物), 1993, 12(1): 10-12.
- [2] Hu S G, Zhu G P, Wu P P, et al. Studies on antitumor effective constituent of *Woodiana anodonta* Lea I. Analysis and characterization of glycoprotein HB- I [J]. *Chin J Marine Drugs* (中国海洋药物), 1997, 6(1): 23-25.
- [3] Hu S G, Wang Y, Zhu G P, et al. Studies on anti-tumor effective constituent of *Anodonta woodiana* Lea I. Isolation and purification of glycoprotein HB- I [J]. *Chin J Marine Drugs* (中国海洋药物), 1997, 16(2): 19-21.
- [4] Zhang W J. *Biochemical Techniques in Complex Carbohydrates* (糖复合物生化研究技术) [M]. 2nd ed. Hangzhou: Zhejiang University Publishing House, 1999.

HPLC 法测定灵丹草软胶囊中臭灵丹酸

梅之南,杨建科²,李效宽¹,李芸芳¹

(1. 中南民族大学民族药物研究所, 湖北 武汉 430074; 2. 湖北南洋药业有限公司, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定灵丹草软胶囊中臭灵丹酸的方法。方法 采用 Agilent Zorbax XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (60:40), 检测波长: 210 nm, 体积流量: 1.0 mL/min, 柱温: 25℃。结果 臭灵丹酸线性范围为 12.91~129.1 μg/mL ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.7%, RSD 为 2.0%。结论 该测定方法简便快捷、精密度高、准确性好, 可以作为灵丹草软胶囊的定量测定方法, 以控制其质量。

关键词: 灵丹草软胶囊; 臭灵丹酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)06-0841-03

Determination of pterodonic acid in Lingdancao Soft Capsula by HPLC

MEI Zhi-nan, YANG Jian-ke, LI Xiao-kuan, LI Yun-fang

(1. Institute of Ethic Medicine, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China; 2. Hubei South Ocean Pharmaceutical Co., Ltd., Wuhan 430022, China)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for determination of pterodonic acid in Lingdancao Soft Capsula. **Methods** Agilent Zorbax XDB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. Acetonitrile-water (60:40) was used as mobile phase, the detection wavelength was 210 nm, flow rate was 1.0 mL/min, and column temperature was at 25℃. **Results** The linear range of pterodonic acid was 12.91—129.1 μg/mL ($r=0.9999$), the average recovery rate of pterodonic acid was 99.7%, RSD was 2.0%. **Conclusion** The method is simple, accurate, and reliable, and it can be used to the quality control of this preparation effectively as a quantitative method.

Key words: Lingdancao Soft Capsula; pterodonic acid; HPLC

灵丹草为菊科植物臭灵丹 *Laggera pterodonta* (DC.) Benth. 的干燥地上部分, 具有疏风、解毒利咽、止咳祛痰的作用。《滇南本草》记载其有“治风热

积毒、痈疽、疮疖、疥癣、白风癣疮”等功效。灵丹草已上市的剂型有颗粒剂^[1]、胶囊剂和片剂, 其工艺技术特点是将处方中的药材提取挥发油后, 滤液浓缩成

收稿日期: 2006-10-15

作者简介: 梅之南 (1970—), 男, 博士, 副教授, 主要从事新药的研究与开发。

Tel: (027) 67843237 Fax: (027) 67843220 E-mail: imm-scuec@mail.scuec.edu.cn

浸膏,将干燥的浸膏粉碎后加入适当的辅料直接灌胶囊,或者进行制粒、干燥后压成片剂,并包衣。为了提高药物的稳定性,掩盖药物的不良臭味,笔者制备了灵丹草软胶囊。本实验主要采用 HPLC 法测定灵丹草软胶囊中具有抗菌活性的有效成分臭灵丹酸,控制该制剂的质量,更有效地保证其临床疗效。

1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括 DAD 检测器,自动进样器。

臭灵丹酸对照品为自制品,UV、IR、MS、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 波谱数据与文献报道^[2~4]一致,经 HPLC 法鉴定其质量分数在 99.0% 以上。灵丹草软胶囊为自制品,每粒装 0.6 g;乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择:经对臭灵丹酸对照品溶液进行紫外扫描,发现在 230 nm 以下有紫外吸收,考虑到该色谱下样品有较好的紫外吸收,又能将溶剂的吸收尽量降低,因此选用 210 nm 为检测波长。

2.2 色谱条件:色谱柱:Agilent Zorbax XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(60:40);检测波长:210 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温。理论塔板数按臭灵丹酸计算不低于 6 000。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取臭灵丹酸对照品适量,加甲醇制成 50 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,摇匀,作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备:取灵丹草软胶囊 10 粒,倾出内容物,约取 1.50 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声(功率 300 W,频率 25 kHz)处理 40 min,放冷,再称定质量,用 80% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.5 干扰试验:按灵丹草软胶囊的处方制备不含灵丹草干浸膏和挥发油的阴性样品,照供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液,进样测定,结果见图 1。结果表明阴性样品对测定无干扰。

2.6 线性范围的考察:精密称取在 60 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥 2 h 的臭灵丹酸对照品适量,加甲醇制成含臭灵丹酸 258.2 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,摇匀。分别精密量取该溶液 0.5、1、2、3、5 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇依次稀释成系列对照品溶液。分别进样 20 μL ,测定,记录色谱峰面积。将峰面积与相对应的质量浓度进行回归处理,计算回归方程为 $Y = 52.12X - 17.62$, $r = 0.9999$ 。结果表明臭灵丹酸在 12.91~

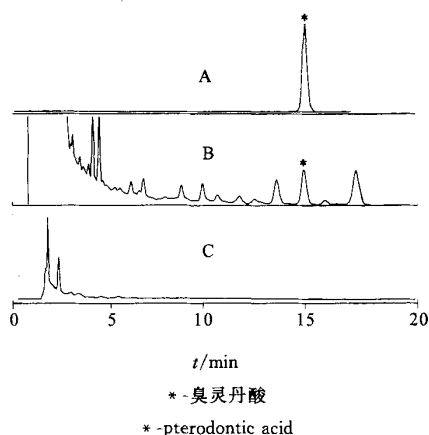


图 1 臭灵丹酸对照品(A)、灵丹草软胶囊(B)和阴性样品(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of pterodonic acid reference substance (A), Lingdancao Soft Capsula (B), and negative sample (C)

129.1 $\mu\text{g/mL}$ 时与相应峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验:取 50 $\mu\text{g/mL}$ 臭灵丹酸对照品溶液,重复进样测定 6 次,结果臭灵丹酸峰面积的 RSD 为 0.44%。

2.8 重现性试验:取批号 20050401 灵丹草软胶囊样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定峰面积,并计算其中臭灵丹酸的质量分数,结果臭灵丹酸的平均质量分数为 0.87 mg/g, RSD 为 0.99%。

2.9 稳定性试验:取批号 20050401 灵丹草软胶囊样品制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 进样 20 μL ,测定,记录峰面积,结果臭灵丹酸峰面积的 RSD 为 1.4%。表明被测溶液在 8 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验:取含臭灵丹酸 0.52 mg/粒的批号 20050401 灵丹草软胶囊样品 3 份,每份 0.75 g,精密称定,分别加入 0.34、0.68、1.02 mg 臭灵丹酸对照品,制备供试品溶液,进样测定。结果平均加样回收率为 99.7%, RSD 为 2.0% ($n=9$)。

2.11 样品的测定:分别称取不同批号灵丹草软胶囊样品,制备供试品溶液,分别精密吸取臭灵丹酸对照品溶液和供试品溶液各 20 μL ,记录峰面积,计算灵丹草软胶囊中臭灵丹酸的质量分数,结果见表 1。

表 1 灵丹草软胶囊中臭灵丹酸的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of pterodonic acid in Lindancao Soft Capsula ($n=3$)

批 号	臭灵丹酸/(mg·粒 ⁻¹)	RSD/%
20050401	0.52	0.97
20050402	0.50	1.10
20050403	0.55	1.15

3 讨论

本实验通过对甲醇-水、甲醇-0.2 mol/L 磷酸二氢钠、乙腈-水不同比例的流动相系统进行比较,发现乙腈-水(60:40)系统分离效果较好,峰形对称,故选择此系统为流动相。在该条件下,臭灵丹酸峰分离良好,峰形对称,理论板数按臭灵丹酸峰计算不低于 6 000,臭灵丹酸与相邻色谱峰的分离度大于 2.0,且阴性样品无干扰。

References:

- [1] Zhang X M, Jiang L D, Zhou P A, *et al.* The clinical observation Lingdancuo Granules therapy upper respiratory infection [J]. *J Emerg Tradit Chin Med* (中国中医急诊), 2001, 10(5): 258.
- [2] Mei Z N, Li Y F, Yu X, *et al.* Pterodonic acid [J]. *Acta Crystallographica* (Section E), 2006, E62, 1841-1843.
- [3] Li S L, Ding J K. Four new sesquiterpenoids from *Laggera pterodonta* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1996, 18(3): 349.
- [4] Li S L, Ding J K, Jiang B, *et al.* Sesquiterpenoids glucosides from *Laggera pterodonta* [J] *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 2035.

丹参中总酚酸的分离纯化工艺研究

杨小宁,唐 星,柳玉石

(沈阳药科大学药学院,辽宁,沈阳 110016)

摘要:目的 考察不同分离纯化工艺对丹参中酚酸类成分提取效率的影响。方法 以丹参提取液中丹酚酸 B 和总酚酸转移率为指标,考察不同分离纯化工艺,并采用 HPLC 法测定各成分的量。结果 纯化工艺确定为 60%、80%乙醇醇沉两次,相应乙醇体积分数洗涤沉淀;醋酸乙酯和 10%碳酸钠溶液交替萃取。结论 水提醇沉和醋酸乙酯萃取法适合于丹参总酚酸的分离纯化。

关键词:丹参;丹酚酸 B;丹参总酚酸;醇沉

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)06-0843-03

Separation and purification of salvianolic acids from *Salvia miltiorrhiza*

YANG Xiao-ning, TANG Xing, LIU Yu-shi

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; salvianolic acids; salvianolic acid B; alcohol sedimentation

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根茎,其有效成分包括水溶性成分和脂溶性成分。脂溶性成分是以丹参酮为代表的醌类化合物,具有良好的抗炎作用;水溶性成分主要有丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、紫草酸、咖啡酸、丹酚酸 A、B 等,总称为总酚酸。丹参总酚酸具有明显的抗血栓形成、溶纤和抗脂质过氧化的作用,是治疗心肌缺血、心绞痛、心肌梗死等心血管疾病的有效成分,其中丹酚酸 B 的量最高,而且是主要的活性成分^[1]。丹参水溶性成分的提取方法多采用水提醇沉法,醇沉效率低,损失大^[2],且所得产物的质量分数低。本实验在原有方法的基础上,对总酚酸的分离纯化工艺进行了新的研究,并以药材中有效成分转移的程度(转移率)为考察指标,对各个工艺步骤及终产物的总酚酸与丹酚酸 B 的提取效率进行了测定。

1 仪器与材料

Hitachi 高效液相色谱仪, HSM 色谱工作站; Jspes2012—5—10000、Jspes2012—5—100000 聚醚砜膜组件(50 mm×300 mm)由吉林市金赛科技开发公司提供。

丹酚酸 B、原儿茶醛、丹参素钠对照品均购于中国药品生物制品检定所,迷迭香酸对照品由北京百灵威化学品有限公司提供,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,去离子水。丹参饮片产自安徽,经鉴定为丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 总酚酸的 HPLC 法测定^[3]:配制适宜质量浓度的对照品溶液,采用外标两点法分别测定丹酚酸 B、迷迭香酸、原儿茶醛和丹参素(以丹参素钠计)的量,以 4 种成分的量之和作为总酚酸的量。

2.2 丹参中总酚酸的测定:取丹参饮片,粉碎至 40

HPLC法测定灵丹草软胶囊中臭灵丹酸

作者：[梅之南](#)，[杨建科](#)，[李效宽](#)，[李芸芳](#)，[MEI Zhi-nan](#)，[YANG Jian-ke](#)，[LI Xiao-kuan](#)，[LI Yun-fang](#)
作者单位：[梅之南](#)，[李芸芳](#)，[LI Xiao-kuan](#)，[LI Yun-fang](#) (湖北南洋药业有限公司, 湖北, 武汉, 430022)，[杨建科](#)，[李效宽](#)，[MEI Zhi-nan](#)，[YANG Jian-ke](#) (中南民族大学民族药物研究所, 湖北, 武汉, 430074)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2007, 38 (6)
被引用次数：1次

参考文献(4条)

1. [Zhang X M](#); [Jiang L D](#); [Zhou P A](#) [The clinical observation Lingdancao Granules therapy upper respiratory infection](#) 2001 (05)
2. [Mei Z N](#); [Li Y F](#); [Yu X](#) [Pterodontic acid](#) 2006
3. [Li S L](#); [Ding J K](#) [Four new sesquiterivenoids from Laggera pterodonta](#) [期刊论文]-[云南植物研究](#) 1996 (03)
4. [Li S L](#); [Ding J K](#); [Jiang B](#) [Sesquiteripenoids glucosides from Laggera pterodonta](#) [外文期刊] 1998 (07)

本文读者也读过(10条)

1. [梅之南](#)，[李效宽](#)，[李芸芳](#)，[MEI Zhi-nan](#)，[LI Xiao-kuan](#)，[LI Yun-fang](#) [阿嗟米特的合成及质量控制](#) [期刊论文]-[中国现代应用药学](#) 2007, 24 (4)
2. [张红丽](#)，[赵亮](#)，[明永飞](#)，[葛晋](#)，[李永民](#)，[陈立仁](#) [高效液相色谱法制备分离外消旋雷诺嗪](#) [会议论文]-2006
3. [萧楠](#) [倍受关注的橡胶防老剂RD](#) [期刊论文]-[中国石油和化工](#) 2005 (4)
4. [张妙玲](#)，[巢峰敬](#)，[马麟](#) [淫羊藿叶总黄酮提取工艺研究](#) [期刊论文]-[福建中医学院学报](#) 2009, 19 (6)
5. [陈永刚](#)，[刘晓涵](#)，[林励](#)，[区计明](#)，[肖凤霞](#)，[罗穗红](#)，[CHEN Yonggang](#)，[LIU Xiaohan](#)，[LIN Li](#)，[QU Jiming](#)，[XIAO Fengxia](#)，[LUO Huihong](#) [优选中药淫羊藿总黄酮含量测定方法](#) [期刊论文]-[广州中医药大学学报](#) 2009, 26 (3)
6. [孙成贺](#)，[王英平](#)，[赵景辉](#)，[刘继永](#)，[许世泉](#)，[王艳艳](#)，[焉石](#)，[柳丽](#)，[SUN cheng-he](#)，[WANG ying-ping](#)，[ZHAO jing-hui](#)，[LIU ji-yong](#)，[XU shi-quan](#)，[WANG yan-yan](#)，[YAN Shi](#)，[LIU li](#) [正交设计法优化淫羊藿提取工艺研究](#) [期刊论文]-[特产研究](#) 2007, 29 (1)
7. [吴刚](#)，[陆宇](#)，[梅之南](#) [傣药坡扣挥发油化学成分研究](#) [期刊论文]-[中国民族医药杂志](#) 2008, 14 (2)
8. [郭青](#)，[张庆生](#) [反相高效液相色谱法测定淫羊藿中淫羊藿苷的含量及采用其指纹色谱图鉴定淫羊藿](#) [期刊论文]-[中国药事](#) 2004, 18 (11)
9. [李效宽](#)，[张熹](#)，[冯晓洪](#)，[梅之南](#) [高效液相色谱法测定顽癣净酊剂中水杨酸和苯甲酸的含量](#) [期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2007, 27 (7)
10. [朱升](#)，[欧海军](#)，[赵淑儿](#)，[左华庭](#)，[祝金龙](#)，[ZHU Sheng](#)，[OU Hai-jun](#)，[ZHAO Shu-er](#)，[ZUO Hua-ting](#)，[ZHU Jin-long](#) [高效液相色谱法测定不同产地淫羊藿中淫羊藿苷的含量](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2008, 19 (9)

引证文献(1条)

1. [梅之南](#)，[程玉洁](#)，[徐玲玲](#)，[李芸芳](#) [灵丹草软胶囊制备工艺的研究](#) [期刊论文]-[中国药师](#) 2007 (8)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706017.aspx