

图4 绿原酸对照品(A)、复方苍耳滴鼻剂(B)和阴性对照(C)的HPLC图谱

Fig. 4 HPLC Chromatograms of chlorogenic acid reference substance (A), Compound Canger Nose Drops (B), and negative sample (C)

2.4.5 重现性试验:取批号 040502-2 样品 4 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得其平均质量浓度为 851 $\mu\text{g/mL}$, RSD 为 1.36%。

2.4.6 稳定性试验:取同一供试品溶液室温放置,并分别于 0、3、6、9、12 h 测定绿原酸峰面积,结果其 RSD 为 1.34%。

2.4.7 回收率试验:取样品 1.0 mL,置 100 mL 量瓶中,分别加入绿原酸对照品溶液适量制备供试品溶液,进样测定,计算,结果平均回收率为 98.10%, RSD 为 0.22% ($n=3$)。

2.4.8 样品测定:精密量取本品 1 mL 置 10 mL 量

瓶中,加 50% 甲醇至刻度,经 0.45 μm 微孔膜滤过,即得供试品溶液。取 7 批样品,分别制备供试品溶液。精密量取 80 $\mu\text{L/mL}$ 绿原酸对照品和供试品溶液各 20 μL 注入高效液相色谱仪中测定,用外标法计算绿原酸的质量浓度。每批样品平行测定 3 次,结果见表 1。

表 1 复方苍耳滴鼻剂中绿原酸的测定结果

Table 1 Determination of chlorogenic acid in Compound Canger Nose Drops

批号	绿原酸/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	批号	绿原酸/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
040527-1	819	040606-1	739
040603-1	817	040606-2	760
040603-2	734	040606-3	851
040603-3	840		

3 讨论

复方苍耳滴鼻剂为我院传统制剂苍耳丸的外用剂型,本实验采用薄层层析法分别对其主要成分连翘、苍耳子和绿原酸进行了鉴定,并采用高效液相色谱法制定了绿原酸的含量测定方法,达到了有效控制该制剂品种质量的目的。实验中方法具有灵敏准确、重现性好的特点,适于该制剂质量控制。

参考文献:

- [1] 李之琳,王珏,张伟,等. 复方苍耳滴鼻液治疗变应性鼻炎的临床疗效[J]. 中国药师, 2004, 7(8): 631.

丹参中总酚酸的大孔吸附树脂分离纯化与富集

吴婉莹, 果德安

(中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎, 具有活血祛瘀, 消肿止痛, 养血安神的功效。已上市治疗心血管疾病的中药复方中, 很多以丹参入药。其活血祛瘀的主要有效成分为丹酚酸类成分, 包括丹酚酸 A、B、E、丹参素, 原儿茶醛等, 其中丹酚酸 B 的量最高, 占总酚酸量的 50% 以上。本研究通过测定分析 7 种不同类型大孔吸附树脂对丹参总酚酸的吸附特性, 从最大吸附量、解吸率和出膏率及其丹参总酚酸的量等多方面因素综合考虑, 发现 AB-8 树脂对丹参总酚酸吸附量大, 吸附快、解吸容易, 纯化后丹参总酚酸的量高, 可富

集制备质量分数达 80% 以上的丹参总酚酸, 为丹参总酚酸的进一步开发提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 岛津 UV-2401 紫外分光光度计。

丹参为唇形科植物丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎, 四川中江丹参基地栽培, 经北京大学医学部天然药物学系韩健鉴定。AB-8、NKA、HPD-100、HPD-600、D-101、D-201、D-301 大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂), 丹酚酸 B 对照品(批号 11562-200403, 中国药品生物制品检定所);

收稿日期: 2007-08-31

作者简介: 吴婉莹 (1973—), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 副研究员, 博士, 从事新药的研究与开发以及中药制剂及药动学的研究, 在该领域已发表论文 10 余篇。 Tel: (021) 50805522-2208 Fax: (021) 50272789 E-mail: wuwanying902@yahoo.com.cn

乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 大孔树脂的预处理^[1]:将7种大孔树脂先用5%的氢氧化钠浸泡、洗脱,去离子水洗至pH值中性后,再用95%乙醇在适当温度下浸泡、洗脱,当洗至乙醇流出液与水1:5时无白色混浊且紫外分光光度检测吸光度不大于0.5时,即可。

2.2 上样液的制备:取丹参药材,粉碎,水提醇沉后,静置12 h,滤过,回收乙醇,并浓缩至相对密度为1.25~1.30(50℃),即得。上样量为生药与干树脂的比为1:1,大孔树脂柱径高比为1:5。

2.3 丹酚酸B的HPLC法测定

2.3.1 色谱条件:色谱柱为Zorbax Extend-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(20:80);体积流量:1.0 mL/min;柱温:25℃;检测波长:288 nm。

2.3.2 标准曲线的绘制:精密称取丹酚酸B对照品1.58 mg,置2 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,得储备液(0.79 mg/mL)。精密吸取0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,分别置1 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取10 μL注入液相色谱仪,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,得回归方程 $Y=0.7632X+6.1422$, $r=0.9999$,线性范围:0.79~3.95 μg。

2.3.3 精密度试验:取同一质量浓度的丹酚酸B对照品溶液,连续进样5次,测定峰面积值,计算得其RSD为2.17%。

2.3.4 稳定性考察:取同一供试品溶液,分别在0、1、2、3、4 h进样,测定丹酚酸B的峰面积,计算质量分数,得其平均值为565.5 mg/g, RSD值为0.59%。结果表明样品水溶液在4 h内稳定。

2.3.5 重现性试验:分别称取同一批样品5份,制备供试品溶液,进样测定丹酚酸B峰面积,计算质量分数,得其平均值为664.9 mg/g, RSD值为0.98%。

2.3.6 加样回收率试验:因样品中丹酚酸B的量较高,如果按取样量的1/2取样进行试验,造成大量的对照品浪费。为了节省对照品,试验相应减少了取样量和稀释倍数。精密称取样品约27 mg,分别置100 mL量瓶中,加水溶解稀释至刻度,摇匀,精密量取1 mL,置2 mL量瓶中,加0.692 mg/mL丹酚酸B镁盐对照品溶液0.2 mL,加水稀释至刻度,测定,计算得平均回收率为101.89%, RSD为3.02%。

2.4 丹参总酚酸的测定

2.4.1 检测波长的确定:取丹酚酸B对照品和成品分别加水配制成一定质量浓度的溶液,于紫外分光光度计上200~400 nm扫描,二者最大吸收波长均为288 nm,因此选用288 nm作为检测波长。

2.4.2 标准曲线的绘制:精密称取丹酚酸B对照品1.30 mg置2 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液(0.65 mg/mL)。精密吸取该溶液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,分别置5 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。以水为空白,于紫外分光光度计288 nm处测定吸光度值。以进样量为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.0516X+0.000171$, $r=0.9993$,线性范围:13~65 μg。

2.4.3 精密度试验:精密吸取丹酚酸B镁盐对照品储备液0.2 mL置5 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,连续进样5次测定其吸光度值,计算得其RSD为0.43%。

2.4.4 稳定性考察:取同一供试品溶液,分别在0、1、2、3、4 h进行测定,结果总酚酸的平均质量分数为875.9 mg/g, RSD为0.26%。表明样品的水溶液在4 h内稳定。

2.4.5 重现性试验:分别称取同一批样品5份,制备供试品溶液,测定吸光度值,计算得总酚酸的质量分数为870.6 mg/g, RSD为2.06%。

2.4.6 加样回收率试验:精密称取样品0.6 mg置5 mL量瓶中,加入0.692 mg/mL丹酚酸B对照品溶液0.2 mL,充分吸附后,加水稀释至刻度,测定,计算得平均回收率为101.99%, RSD为2.99%。

2.5 树脂含水量的测定:取大孔吸附树脂2 g,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,精密称定,打开瓶盖在100~105℃干燥5 h后,将瓶盖盖好,移置于干燥器中,冷却30 min,精密称定质量,再在上述温度干燥1 h,冷却,称定质量,至连续两次质量的差异不超过5 mg为止,根据减失的质量,计算各种型号大孔树脂的含水量,结果AB-8、NKA、HPD-100、HPD-600、D-101、D-201、D-301树脂的含水量分别为70.17%、68.49%、61.62%、67.01%、68.65%、72.31%、62.63%。

2.6 最大比吸附值的考察:取一定量的丹参药材,按最佳工艺提取,醇沉后,将其分为8等份,其中1份为空白样,另外7份加入已处理好的各种型号的大孔吸附树脂,室温放置,吸附24 h,滤过多药液,测定残余药液中丹参总酚酸和丹酚酸B的质量浓度。以最大比吸附值[最大比吸附值=(原液中目

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 为非极性或非极性的的大孔树脂,S-8、NKA-9 为极性的的大孔树脂。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

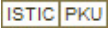
乔艳玲,梁春华*,邵文

(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。

丹参中总酚酸的大孔吸附树脂分离纯化与富集

作者: [吴婉莹](#), [果德安](#)
作者单位: [中国科学院上海药物研究所, 上海, 201203](#)
刊名: [中草药](#) 
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39 (6)
被引用次数: 4次

参考文献(1条)

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](#) [期刊论文] - [世界科学技术-中医药现代化](#) 2004 (03)

本文读者也读过(2条)

1. [张秋燕](#), [崔翰明](#), [张春光](#), [王阶](#) [丹参水溶性成分的纯化工艺和质量研究](#) [会议论文] - 2009
2. [陈贤春](#), [吴清](#), [李冀湘](#), [CHEN Xian-chun](#), [WU Qing](#), [Li Ji-xiang](#) [大孔吸附树脂富集丹参总酚酸的工艺研究](#) [期刊论文] - [中国中药杂志](#) 2007, 32 (12)

引证文献(4条)

1. [贾永艳](#), [田效志](#), [李九席](#), [陈波](#), [樊静静](#) [丹参大孔树脂纯化工艺研究](#) [期刊论文] - [河南科学](#) 2012 (4)
2. [姜喜成](#), [秦培勇](#), [谭天伟](#) [大孔树脂对丹参酮II A的静态吸附研究](#) [期刊论文] - [北京化工大学学报\(自然科学版\)](#) 2009 (3)
3. [吴婉莹](#), [杨洲](#), [侯晋军](#), [果德安](#) [总丹参酮不同纯化工艺的比较](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2008 (12)
4. [苏酩](#), [苗建武](#), [田景振](#) [丹参有效成分的提取纯化研究](#) [期刊论文] - [齐鲁药事](#) 2010 (9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806022.aspx