

# HPLC 测定蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量

李俊芳,崔雅慧,郑艳春,董海荣,黄飞龙

(承德颈复康药业集团有限公司河北省中药新辅料工程技术研究中心,河北承德 067000)

[摘要] 目的:建立蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法测定蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 的含量。色谱法分析条件为 Kromasil-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水溶液(28:8:64),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 286 nm。结果:丹酚酸 B 在 0.150 4~15.04 μg 与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率 98.90%,RSD 1.22%。结论:该方法操作简便,结果可靠,为蚁参蠲痹胶囊的质量研究提供有效的方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 蚁参蠲痹胶囊; 丹酚酸 B; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)18-0103-03

## Content Determination of Salvianolic Acid B in Yishen Juanbi Capsule by HPLC

LI Jun-fang, CUI Ya-hui, ZHENG Yan-chun, DONG Hai-rong, HUANG Fei-long

(Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co. Ltd, New Excipients of Traditional Chinese Medicine  
Engineering Research Center of Hebei Province, Chengde 067000, China)

[收稿日期] 20120307(007)

[第一作者] 李俊芳,工程师,从事中药新药制剂及质量研究,Tel:0314-2292050,E-mail:ljf19791221@163.com

0.526 mg·g<sup>-1</sup>),剪碎,分别称取 9 份,每份 5 g,精密加入不同量的对照品,按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,按上述色谱条件进行 HPLC 分析,测定川续断皂苷 VI 的峰面积,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 川续断皂苷 VI 含量测定加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	5.000 1	2.725 1	2.072	4.793 3	99.82		
2	5.002 1	2.726 1	2.072	4.739 3	97.16		
3	5.003 2	2.726 7	2.072	4.817 8	100.92		
4	5.002 3	2.726 3	2.59	5.245	97.25		
5	5.001 5	2.725 8	2.59	5.277 9	98.54	99.15	1.42
6	5.001 2	2.725 7	2.59	5.306 3	99.64		
7	5.002 2	2.726 2	3.018	5.736 9	99.76		
8	5.001 1	2.725 6	3.018	5.732 7	99.64		
9	5.000 6	2.725 3	3.018	5.750 2	100.23		

2.2.2 和 2.2.3 项方法分别制备对照品溶液和供试品溶液,依法进样测定,结果 6 批样品中川续断皂苷 VI 的质量分数分别为 0.542,0.553,0.545,0.555,0.546,0.556 mg·g<sup>-1</sup>,平均质量分数为 0.55 mg·g<sup>-1</sup>。

### [参考文献]

- [1] 吴楠. 壮腰补肾丸中熟地黄红参的薄层鉴别[J]. 中医函授通讯,2000,19(3):57.
- [2] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第 2 册. WS<sub>3</sub>-B-0273-90.
- [3] 刘成红,武志. HPLC 测定强肾镇痛丸中川续断皂苷 VI[J]. 中成药,2009,31(12):1957.
- [4] 贾树娟,黄雪莹. HPLC 测定妇科止血灵片中川续断皂苷 VI 的含量[J]. 中国医药导报,2010,7(10):80.
- [5] 刘基柱,邓小慧,李淑贤,等. 仙灵壮骨胶囊中川续断皂苷 VI 的含量测定[J]. 河南中医,2009,29(7):707.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [7] 姜泽静,卢燕,陈道峰. 南五味子的薄层色谱鉴别与质量标准研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2899.

[责任编辑 顾雪竹]

2.2.10 样品测定结果 取 6 批样品,按上述

**[ Abstract ] Objective:** To establish a method for determining Salviannic acid B in Yishen Juanbi capsule. **Method:** Determination of salviannic acid B in Yishen Juanbi capsule was performed on Kromasil-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); mobile phase was methanol-acetonitrile-1.7% formic acid solution (28:8:64); flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; detection wavelength was set at 286 nm. **Result:** Salviannic acid B was linear in the range of 0.150 4-15.04 μg (*r* = 0.999 9); the average recovery was 98.90%, RSD 1.22%. **Conclusion:** This method has good repeatability and flexibility. It can be used for quality control in production of Yishen Juanbi capsule.

**[ Key words ]** HPLC; Yishen Juanbi capsule; salviannic acid B; content determination

蚁参蠲痹胶囊是承德颈复康药业集团有限公司生产的治疗风湿骨病的主打品种,具有补肾健脾、祛风除湿、活血通络的功效,临床广泛应用于类风湿性关节炎中医辨证为脾肾两虚、寒湿瘀阻症。处方主要由蚂蚁、丹参、鸡血藤等组成,其中丹参<sup>[1]</sup>为本品处方中的主药,在制剂工艺中丹参分为两部分入药,即醇提部分和水提部分,但现行标准中仅收录了丹参醇提部分主要有效成分丹参酮 II<sub>A</sub> 的含测,为全面提高产品质量标准,保证临床用药安全、有效,笔者采用高效液相色谱法对丹参水提部分主要有效成分丹酚酸 B<sup>[2-8]</sup> 进行了含量测定。

### 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10A 型高效液相色谱仪(岛津 LC-10AT 泵,SPD-M10A 紫外检测器,CLASS-LC5.03 色谱工作站),AL104 型电子天平梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,HH-S 型水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂),SK3200H 型超声清洗器(上海科导仪器有限公司)。

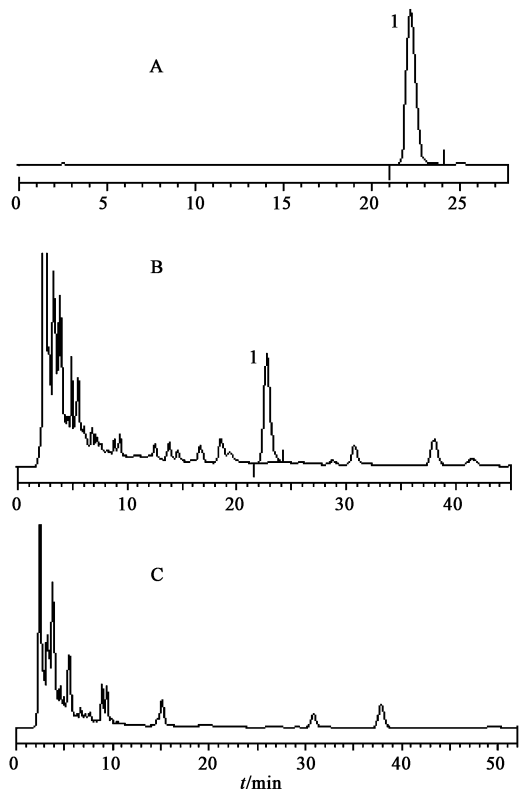
丹酚酸 B 对照品购自中国药品生物制品检定所,批号 111562-200706,甲醇为色谱纯,水为二次蒸馏水,其他试剂均为分析纯;蚁参蠲痹胶囊为承德颈复康药业集团有限公司生产。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Kromasil-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水溶液为(28:8:64),流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 286 nm,进样量 10 μL。在上述色谱条件下丹酚酸 B 峰的保留时间约为 22 min,理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算不低于 5 000。见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加 75% 甲醇制成每 1 mL 含 0.14 mg 的溶液,即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品装量差异项下的内容物约 2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,取出,放冷,再称定质量,用 75% 甲醇补足减失的质量,摇



1. 丹酚酸 B

图 1 丹酚酸 B 对照品(A)、蚁参蠲痹胶囊(B)和阴性对照(C)的 HPLC

匀,滤过,取续滤液,0.45 μm 的微孔滤膜滤过,即得。

**2.4 线性关系考察** 精密称取丹酚酸 B 对照品 30.08 mg,置 20 mL 棕色量瓶中,加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀作为对照品储备液(质量浓度为 1.504 g · L<sup>-1</sup>);精密吸取此液 1,1,2,1,2,4,1 mL 分别置 100,25,25,10,5,5 mL,1 mL 棕色量瓶中,用 75% 甲醇稀释至刻度,摇匀,制成 7 种不同质量浓度的对照品溶液。分别吸取 10 μL 注入液相色谱仪中,测定峰面积。以丹酚酸 B 进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程为  $Y = 1.19 \times 10^6 X - 4.80 \times 10^3$  (*r* = 0.999 9) (*n* = 7)。结果表明丹酚酸 B 进样量在 0.150 4 ~ 15.04 μg 与峰面积

呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液,连续进样 6 次,每次 10  $\mu\text{L}$ ,测定丹酚酸 B 峰面积 RSD 0.69%,表面精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液分别在 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 精密吸取 10  $\mu\text{L}$  进样测定,记录丹酚酸 B 峰面积,结果其 RSD 0.92%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.7 重复性试验** 称取蚁参蠲痹胶囊样品粉末(批号 080101)6 份,每份 2.0 g,精密称定,照 2.3 项制备供试品溶液,照 2.1 色谱条件进行测定,测得丹酚酸 B 平均含量为 3.12  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD 1.35%,表明本试验方法重复性良好。

**2.8 回收率试验** 取重复性试验项下的蚁参蠲痹胶囊样品粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,分别精密加入 3.125  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的丹酚酸 B 对照品溶液 1 mL,挥干溶剂,照 2.3 项下方法制备供试品溶液,进样 10  $\mu\text{L}$ ,测定,计算回收率,结果平均加样回收率为 98.90%,RSD 1.22%,见表 1。

表 1 蚁参蠲痹胶囊中丹酚酸 B 加样回收率

No.	称样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	1.005 8	3.138 1	3.125 0	6.189 2	97.64	98.90	1.22
2	1.006 9	3.141 5	3.125 0	6.235 8	99.02		
3	0.999 2	3.117 5	3.125 0	6.270 9	100.91		
4	1.002 3	3.127 2	3.125 0	6.188 4	97.96		
5	0.998 4	3.115 0	3.125 0	6.226 3	99.56		
6	1.003 7	3.131 5	3.125 0	6.204 5	98.33		

**2.9 测定结果** 取丹酚酸 B 对照品溶液和蚁参蠲痹胶囊供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$  进样测定,采用外标法计算丹酚酸 B 的含量,结果 3 批样品丹酚酸 B 质量分数分别为 3.16, 3.52, 3.30  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

选用甲醇-乙腈-2% 甲酸水溶液(29:9:62);甲醇-乙腈-冰醋酸-水(35:5:1:60);乙腈-1% 甲酸水溶液(24:76);甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水溶液(28:8:64)等不同的流动相进行试验,经比较以甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水溶液(28:8:64)为流动相,所得到的色谱图效果最佳。检测波长的选择参考药典,丹酚酸

B 及供试品溶液在 286 nm 处均有最大吸收,故确定检测波长为 286 nm。

依次选用 50% 甲醇、75% 甲醇、甲醇、甲醇-乙腈-1.7% 甲酸水、水、乙醇为提取溶剂进行考察,结果用 75% 甲醇提取效果最佳,故选定 75% 甲醇为提取溶剂。对超声、加热回流、索氏提取 3 种提取方法进行考察,发现用加热回流提取效率最高,并且对加热回流时间也进行了考察,结果表明加热回流 1 h 提取率最高。

选择增加丹参中的水溶性活性成分丹酚酸 B 为定量指标,一方面由于方中主药丹参起活血祛瘀的作用,其水提部分主要有效成分丹酚酸 B,在药理活性上体现出多靶点、多环节的作用<sup>[9]</sup>。同时与丹参<sup>[10]</sup>药材的定量测定指标相一致,使质控更具有实际意义。

### [参考文献]

- [1] 李向军,范文成,李奉勤,等. 丹参有效成分提取的研究[J]. 中国现代中药,2011,13(5):33.
- [2] 原文鹏,刘林娜,邓少伟,等. 丹参中丹酚酸 B 的含量测定[J]. 湖南中医杂志,2004,20(4):81.
- [3] 张启伟,张颖,李计萍,等. 高效液相色谱法测定丹参中丹酚酸 B[J]. 中国中药杂志,2001,26(12):848.
- [4] 李庆斌,唐丽丽,黄英栋,等. HPLC 测定山七降脂通脉胶囊中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):83.
- [5] 刘元,莫海涛,宋志钊,等. HPLC 法测定千斤脑康宁胶囊中丹酚酸 B 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(4):37.
- [6] 赵艳普,冯丽,赵振霞. HPLC 法测定滑膜炎制剂中丹酚酸 B 的含量[S]. 中国药品标准,2011,12(6):436.
- [7] 李嫦玲,李跃辉. 高效液相色谱法测定双丹分散片中丹酚酸 B 的含量研究[J]. 湖南中医杂志,2012,28(1):99.
- [8] 杨锁成,汪坤,张振凌. HPLC 同时测定复方丹参降浊丸中丹参酮 II A 和丹酚酸 B [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):84.
- [9] 尹音,王峰,徐向阳. 丹酚酸 B 研究进展 [J]. 中国药师,2007,10(10):1034.
- [10] 中国药典. 一部[S]. 2010.70.

[责任编辑 顾雪竹]