

# HPLC 法测定千斤脑康宁胶囊中丹酚酸 B 的含量

刘元<sup>1\*</sup>, 莫海涛<sup>2</sup>, 宋志钊<sup>1</sup>, 文志云<sup>1</sup>, 李星宇<sup>1</sup>

(1. 广西中医药研究院, 南宁 530022; 2. 南宁市冠峰制药有限公司, 南宁 530008)

[摘要] 目的: 建立千斤脑康宁胶囊中丹酚酸 B 的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, kromasilC<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-乙腈-1% 甲酸溶液(24 10 66) 流动相, 286 nm 检测波长, 柱温室温。结果: 丹酚酸 B 在 0.24 ~4.04 μg, 峰面积与其浓度呈良好线性关系( $r=0.9998$ ), 平均回收率 97.5%, RSD 1.27% ( $n=6$ )。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂含量测定方法。

[关键词] 千斤脑康宁胶囊; 丹酚酸 B; 含量测定; 高效液相法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0037-02

千斤脑康宁胶囊是我研究院根据广西地方民族经验方, 经筛选后进行研制的中药制剂, 主要由千斤拔、扶芳藤、丹参、鹿角胶、山萸肉等中药组成, 具有补肾益脾, 活血化瘀, 健脑生髓之功效。用于脾肾两虚, 痰瘀阻络, 脑髓不足所致之痴呆疗效显著。为了更好地控制其质量, 保证临床疗效, 本实验采用 HPLC 法测定了制剂中丹酚酸 B 的含量, 为本品质量标准的制订提供了依据。

## 1 仪器与试药

日本岛津 LC-10ATVP 液相色谱仪; 检测器 SPD-10AVP; 威玛龙色谱工作站。丹酚酸 B 对照品(批号 111562-200302), 购于中国药品生物制品检定所。水为高纯水; 乙腈为色谱纯。样品: 千斤脑康宁胶囊, 南宁市冠峰制药有限公司提供(批号 060813、061008、080301)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** kromasilC<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 检测波长 286 nm; 流动相甲醇-乙腈-1% 甲酸溶液(24 10 66); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温为室温。理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算不低于 3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取丹酚酸 B 对照品适量, 加 75% 甲醇制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品内容物, 研细, 混

匀, 取约 0.3 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇 20 mL, 超声处理 30 min(功率 90 W、频率 45 kHz), 放冷, 加 75% 甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

**2.4 阴性对照溶液的制备** 按千斤脑康宁胶囊处方和方法制备缺丹参的阴性样品, 精密吸取 0.3 g, 按供试品溶液制备方法制备缺丹参阴性样品供试液。

**2.5 标准曲线及线性范围考察** 精密称取丹酚酸 B 对照品 20.2 mg, 置 50 mL 量瓶中用 75% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液(浓度为 404 μg·mL<sup>-1</sup>), 精密量取上述对照品储备液 0.6, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取上述对照品及 404 μg·mL<sup>-1</sup> 对照品溶液, 进样, 测定。进样 10 μL, 测定。以丹酚酸 B 对照品进样量(μg) 为横坐标( $X$ ), 峰面积积分为纵坐标( $Y$ ) 绘制标准曲线, 得回归曲线为  $Y=704\ 461X+1\ 538.7$ , 相关系数  $r=0.9998$ 。

**2.6 精密度试验** 分别吸取同一供试品溶液, 进样 5 次, 依次测定, 即得。测得供试品 RSD 1.51%。

**2.7 重复性试验** 取同一批号(061008) 样品, 按供试品溶液制备方法制备 6 份, 分别进样, 测定, 即得。结果测得丹酚酸 B 质量分数为 5.04 mg/粒, RSD 1.67% ( $n=6$ )。表明该方法重复性良好。

**2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液分别于 0, 4, 8, 12, 16 h 进行测定, 即得。结果供试品中丹酚酸 B 含量的 RSD 为 0.99%, 表明供试品溶液在 16 h 内保持稳定。

**2.9 加样回收试验** 取已测知质量分数(5.04 mg/

[收稿日期] 2009-04-28

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻 0537018-13)

[通讯作者] \* 刘元, Tel: (0771) 5868275; E-mail: liuyuan0821@vip.163.com

粒) 的供试品 0.15 g, 精密加入对照品, 按供试液的制备方法测定。结果丹酚酸 B 平均回收率 97.5%, RSD 1.27% ( $n=6$ ), 结果见表 1。

表 1 加样回收试验 ( $n=6$ )

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.1504	1.5073	1.5352	3.0297	99.2	97.5	1.27
0.1537	1.5404	1.5352	3.0412	97.8		
0.1511	1.5143	1.5352	3.0077	97.3		
0.1528	1.5313	1.5352	3.0341	97.9		
0.1501	1.5043	1.5352	2.9696	95.4		
0.1536	1.5394	1.5352	3.0319	97.2		

**2.10 阴性对照实验** 按千斤脑康宁胶囊处方和方法制备缺丹参的阴性样品, 精密吸取 0.3 g, 按供试品溶液制备方法制备缺丹参阴性样品供试液, 测定。阴性样品溶液在丹酚酸 B 峰位置无吸收峰出现, 即阴性无干扰, 进一步说明丹酚酸 B 来源于丹参。

**2.11 样品测定** 按供试液的制备及检测方法, 分别测定 3 个批号的样品, 结果丹酚酸 B 质量分数为 5.18, 5.08, 4.00 mg/粒。

### 3 讨论

丹参为方中臣药, 起活血祛瘀, 通利血脉, 有助于心脑血管海充养之功效。其脂溶性成分丹参酮 A 具有抗血小板聚集作用、抗血栓作用和对实验性心肌缺血和再灌注损伤具有保护作用, 能不同程度地改善小鼠因东莨菪碱所致的记忆损害<sup>[1]</sup>; 水溶性成分丹酚酸 B 对大鼠、小鼠脑缺血和缺血再灌注引起的脑损伤具有保护作用, 可缩小缺血区面积, 减少脑组织中 MDA 含量, 缓解由于脑缺血引起的行为学障碍, 对由此引起的记忆功能障碍有明显的改善作用<sup>[2,3]</sup>。结合千斤脑康宁胶囊的制备工艺特点(丹参用 80% 乙醇作溶剂渗漉, 药渣与其余药味水煮), 摸索本方中丹参酮 A 和丹酚酸 B 的含量测定方法, 可作为控制本品质量标准的指标之一。

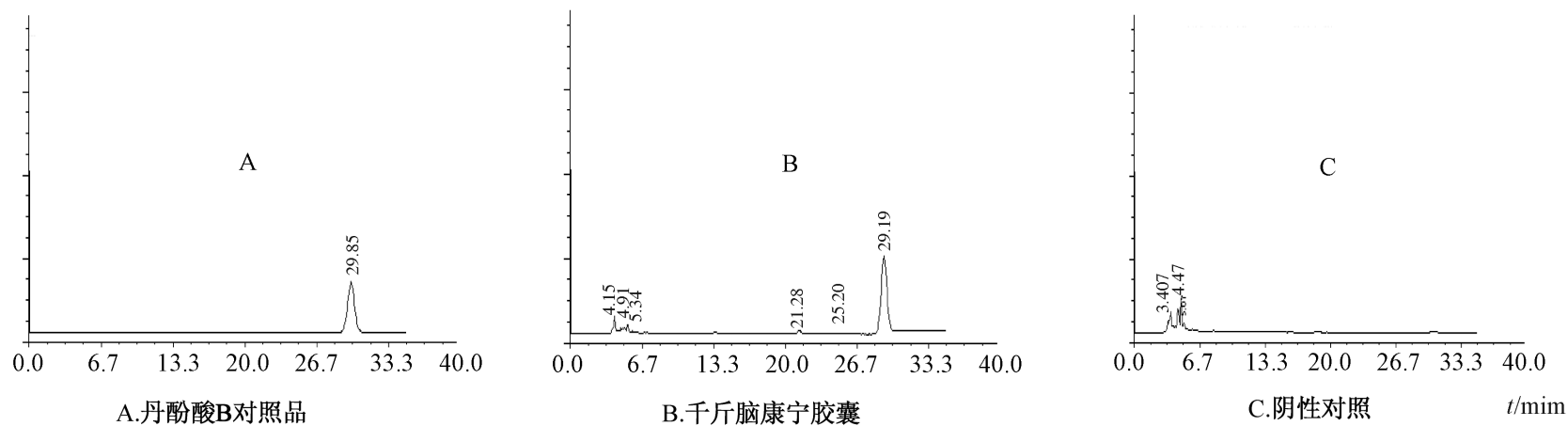


图 1 千斤脑康宁胶囊高效液相色谱图

参照《中国药典》2005 年版一部丹参药材及复方丹参片中丹酚酸 B 含量测定方法<sup>[4]</sup>, 以甲醇-乙腈-1% 甲酸溶液 (30 10 60) 为流动相, 结果色谱峰分离效果欠佳, 因此又调整比例为 (28 10 62), (26 10 64), (24 10 66) 试验表明, 采用流动相 (24 10 66) 的比例时, 样品中丹酚酸 B 与其他杂质峰完全分离, 并且出峰时间适宜。

从实验结果看, 本分析方法精密度高, 准确度、重复性都比较好, 并且操作简便、快捷, 可有效地控制千斤脑康宁胶囊的质量。

### [参考文献]

[1] 刘晓军, 吴梧桐. 川芎、丹参酮 A、泛醌和艾地苯醌

对小鼠水迷宫操作的影响[J]. 中国药理学报, 1999, 20 (11): 987.

[2] Du G H, Qiu Y, Zhang J T. Salvianolic acid B protects the memory function against transient cerebral ischemia in mice (JANPR) [J]. As/a Natural Prod Research, 2000, 2 (2): 145.

[3] 田晔, 狄政莉, 梁画荻, 等. 丹参对缺血再灌注后神经细胞的保护作用及其机制研究[J]. 药物流行病学杂志, 2004, 14(4): 169.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 527.