

反相高效液相色谱法测定 尿毒清颗粒(无糖型)丹参素和原儿茶醛含量

赵士冶

(湖南省药品检验研究院,长沙 410001)

摘要 目的 建立反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定尿毒清颗粒(无糖型)中丹参素和原儿茶醛含量。方法 采用 Agela Promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.25%冰醋酸(10:90);流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 280 nm;柱温 30 ℃。结果 丹参素和原儿茶醛的进样量与峰面积分别在 0.076 5~1.148 0 μg ($r=0.999\ 9$), 0.047 6~0.713 0 μg($r=1.000\ 0$)呈良好线性关系,平均回收率分别为 99.56%,100.16%,RSD 分别为 1.20%,1.43%。结论 该法简便、快速、准确,可用于尿毒清颗粒(无糖型)质量控制。

关键词 尿毒清颗粒;丹参素;原儿茶醛;色谱法,高效液相

中图分类号 R286; R927.2

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2017)12-1402-02

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.12.018

尿毒清颗粒中含有大黄、黄芪、桑白皮、苦参、白术、茯苓、制何首乌、丹参、车前草等药味,其中丹参在该制剂中具活血化瘀之功效,用于慢性肾功能衰竭及尿毒症早期等。《新药转正标准第十六至二十六册》中载芍药苷的含量测定^[1]。经查阅文献已有该制剂中大黄酸及黄芪甲苷测定的报道^[2-3],尚未查阅到该制剂中丹参活性成分测定的报道。丹参素、原儿茶醛是丹参的主要水溶性成分,起抗心肌缺血和缺氧的作用,也是制剂中具活血化瘀作用的主要成分^[4]。为定量了解该制剂中此两种有效成分的含量,本实验建立高效液相色谱(HPLC)法同时测定制剂中丹参素和原儿茶醛含量,以便更好地控制尿毒清颗粒的质量。

1 仪器与试剂

1.1 主要仪器 日本岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪,紫外检测器。

1.2 试剂 丹参素钠(每 1 mg 丹参素钠相当于 0.912 mg 丹参素)、原儿茶醛(购自中国食品药品检定研究院,批号:110855-201311,110810-201007,含量分别为 98.1%,98.2%);甲醇、乙腈均为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。尿毒清颗粒:康臣药业(内蒙古)有限责任公司(I,批号:20140722;II,批号:20151025;III,批号:20150224),规格:每袋 5 g。

2 方法与结果

2.1 对照品储备液及对照品溶液 取丹参素钠对照品 14.26 mg,加 50%甲醇溶解并稀释至 50 mL;取原儿茶醛对照品 12.11 mg,加甲醇溶解并稀释至 25 mL;分

别作为丹参素钠与原儿茶醛对照品储备液。分别精密量取丹参素钠与原儿茶醛对照品贮备液 3 和 1 mL,加 50%甲醇稀释至 20 mL,摇匀,作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液 取本品 10 袋,研细,取约 1.5 g,精密称定,精密加入 50%甲醇 25 mL,称定质量,超声处理(功率 350 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,再称定质量,减失的质量用 50%甲醇补足,摇匀,微孔滤膜滤过,即得。

2.3 阴性对照溶液的制备 按处方称取不含丹参的其他药味,参照制备工艺制备样品,按“2.2”同法制得阴性对照溶液。

2.4 色谱条件 采用 Agela Promosil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.25%醋酸(10:90);柱温 30 ℃;流速 1.0 mL·min⁻¹;紫外检测波长 280 nm;进样量 15 μL。

2.5 干扰实验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按“2.4”项下的色谱条件测定。供试品溶液中丹参素与原儿茶醛分离良好,出峰时间均与相应对照品一致,在丹参素与原儿茶醛出峰时间处,阴性对照溶液无干扰峰。结果见图 1。

2.6 线性范围考察 取“2.1”项下对照品溶液分别进样 2,4,8,10,15,30 μL,横轴(X)为进样量,纵轴(Y)为峰面积,进行线性回归,回归方程分别为:丹参素: $Y=26\ 859\ X+7\ 792$,线性范围为 0.076 5~1.148 0 μg ($r=0.999\ 9$);原儿茶醛: $Y=52\ 794\ X-7\ 867$,线性范围为 0.047 6~0.713 0 μg($r=1.000\ 0$)。可见该法线性关系良好。

2.7 精密度实验 取对照品溶液在“2.4”项下色谱条件下进样,连续进样 6 次,记录峰面积,丹参素与原儿茶醛峰面积的 RSD 分别为 0.50%和 0.71%。

2.8 重复性实验 取样品 I 按“2.2”项下配制 6 份样品

收稿日期 2016-09-22 修回日期 2016-11-11

作者简介 赵士冶(1974-),男,天津蓟县人,副主任药师,学士,研究方向:药物分析。电话:0731-82275873, E-mail:284747871@qq.com。

溶液,进样,记录色谱图并计算含量,丹参素与原儿茶醛平均含量分别为每袋 2.42 mg,每袋 0.46 mg,RSD%分别为 0.78%,0.85%。结果表明该法重复性良好。

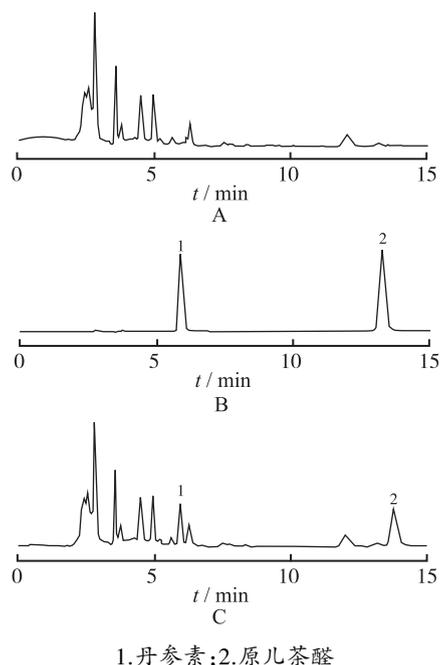


图 1 阴性样品(A)、对照品(B)和供试品(C)HPLC 色谱图

2.9 稳定性实验 取同一供试品溶液于 0,4,6,8,10,12,24 h 进样,记录色谱图,丹参素与原儿茶醛峰面积 RSD%分别为 0.72%和 0.89%,结果表明供试品溶液放置 24 h 内稳定。

2.10 加样回收率实验 精密称取已知含量的样品 I 粉末约 0.75 g,分别称取 6 份,每份均加入丹参素钠对照品贮备液 1.5 mL 与原儿茶醛对照品贮备液 0.2 mL,按“2.2”项下处理。按外标法计算二种组份含量,并计算回收率。结果丹参素和原儿茶醛平均回收率依次为 99.56%,100.16%,RSD 依次为 1.20%,1.43%。见表 1。

2.11 样品含量测定 取 3 批样品按“2.2”项下制备,进样,同时取“2.1”项下的对照品溶液进样,按外标法计算丹参素与原儿茶醛含量,测定结果见表 2。

3 讨论

3.1 测定波长的选择 经测定丹参素最大吸收波长为 220,280 nm,原儿茶醛最大吸收波长为 230,278,310 nm,故实验中选择 280 nm 为测定波长,两种成分吸收均较大,同时避开末端吸收。

3.2 提取溶剂的考察 本实验分别采用不同比例甲醇、乙醇提取样品,结果表明乙醇溶液中原儿茶醛均提取不完全;50%甲醇提取液中丹参素及原儿茶醛峰面

积均最大,因此选用 50%甲醇为提取溶剂。

表 1 丹参素和原儿茶醛加样回收率测定结果

样品	称样量/g	样品量 加入量 测得量			回收率/ %
		mg			
丹参素	0.768 1	0.365 0	0.382 7	0.749 3	100.42
	0.760 8	0.361 5	0.382 7	0.736 5	97.99
	0.768 9	0.365 4	0.382 7	0.743 1	98.69
	0.748 6	0.355 7	0.382 7	0.741 8	100.89
	0.745 8	0.354 4	0.382 7	0.739 2	100.55
	0.753 2	0.357 9	0.382 7	0.736 2	98.85
原儿茶醛	0.768 1	0.069 4	0.095 1	0.165 3	100.84
	0.760 8	0.068 7	0.095 1	0.163 1	99.26
	0.768 9	0.069 5	0.095 1	0.166 2	101.68
	0.748 6	0.067 6	0.095 1	0.164 2	101.58
	0.745 8	0.067 4	0.095 1	0.160 7	98.11
	0.753 2	0.068 0	0.095 1	0.162 6	99.47

表 2 3 批样品每袋含量测定结果

样品	mg	
	丹参素	原儿茶醛
I	2.42	0.46
II	2.64	0.42
III	2.33	0.53

3.3 样品处理方法的考察 实验证明超声提取 30 min 后延长超声时间,丹参素及原儿茶醛峰面积不再增加;超声与回流两种提取方法提取效率无差别,因此选择超 30 min 声处理样品。

3.4 测定成分的选择 丹参中有效成分包括丹参酮 I、II A、II B,隐丹参酮等为代表的脂溶性成分;丹参素、原儿茶醛等代表的水溶成分^[5-6]。制剂中提取工艺不同影响有效成分类型,经测定尿毒清颗粒(无糖型)中丹参素、原儿茶醛含量较高,而丹参酮 I、II A 等脂溶性成分含量较低,因此本实验选择测定尿毒清颗粒(无糖型)中丹参素、原儿茶醛的含量。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.新药转正标准第十六至第二十六册[S].中国医药科技出版社,2010:451.
- [2] 何洁英,王汝上,黄振山.HPLC 法测定尿毒清颗粒中大黄酸的含量[J].现代医院,2011,11(6):30-31.
- [3] 邹剑成,周洪波.尿毒清颗粒中黄芪甲苷的含量测定[J].中国药业,2009,18(9):27-28.
- [4] 李生萍.丹参中有效成分的分离、提取、提纯[J].中国医药指南,2013,11(4):78-79.
- [5] 姜晓燕,张琳,窦志华,等.反相高效液相色谱法同时测定丹参中 5 种成分含量[J].医药导报,2016,35(9):997-910
- [6] 张珺,程月发,张爱兵.丹参胶囊水溶性成分的高效液相色谱指纹图谱分析[J].医药导报,2015,34(1):89-94.