

丹参及丹参制剂中水溶性 酚酸总量的测定*

□曹冬 黄喜茹** 刘振通 范桂敏

(河北医科大学药学院分析化学教研室 石家庄 050017)

摘要:目的:研究建立丹参及丹参制剂中水溶性酚酸总量的测定方法,以控制内在质量。方法:在1mol/L的冰醋酸溶剂中,利用丹参中水溶性酚酸类成分与铁氰化钾-三氯化铁的显色反应,比色法测定丹参及其制剂中水溶性酚酸(以原儿茶醛计)的总量。结果:原儿茶醛在0.4448~2.002μg/ml范围内呈良好的线性关系,回归方程为: $A = 0.05237C + 0.07654$ ($r = 0.9998$),加样平均回收率为100.0%,相对标准偏差(RSD)为0.93%。结论:该法简便快速,结果准确,重现性好,可用于丹参及其制剂的质量控制。

关键词:丹参 丹参制剂 原儿茶醛 水溶性酚酸总量 比色法

丹参及丹参制剂如丹参注射液、丹参滴注液、丹参粉针、丹香注射液、复方丹参片等是临床应用量较大的中草药制剂,有活血化瘀、理气开窍、扩张血管和增进冠状动脉血量的作用,主要用于心绞痛、心肌梗塞等疾病的预防和治疗^[1-2]。丹参为制剂的原料药或君药,丹参中的化学成分包括水溶性酚酸类和脂溶性二萜醌类化合物。水溶性酚酸类主要包括丹参素、原儿茶醛、原儿茶酸、迷迭香酸、迷迭香酸甲酯、紫草酸、咖啡酸、异阿魏酸、丹酚酸A、B、C、D、E、F、G等;脂溶性二萜醌类化合物主要包括丹参

酮IIA、丹参酮I、丹参酸甲酯、丹参新酮和隐丹参酮等。

丹参的水溶性酚酸类成分是丹参及其制剂的主要活性成分,其含量高低决定疗效。由于其成分复杂,测定各个单一成分不仅难度大,且不足以全面反映丹参药物的质量。在丹参制剂的质量控制研究中,以其中水溶性酚酸总量作为质量控制指标还未见报道。本文利用丹参中水溶性酚酸类成分在1mol/L的冰醋酸溶剂中与铁氰化钾-三氯化铁生成污绿色化合物的显色反应^[3],研究建立了丹参及丹参制剂中水溶性酚酸总量(以原儿茶醛计)的测

收稿日期:2005-04-27

修回日期:2005-08-02

* 河北省卫生厅资助项目(04102);金银花等中药及其制剂中有效成分测定系列研究,负责人:黄喜茹。

** 联系人:黄喜茹,教授,硕士生导师,研究方向:从事药物分析研究,Tel:0311-86265623,E-mail:huangxr@hebm. edu. cn。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 67

定方法,可全面控制丹参及其制剂的质量。

一、实验方法和结果

1. 主要仪器和试剂

紫外可见分光光度计 (UV-2201 日本岛津); 原儿茶醛对照品 (中国药品生物制品检定所, 105℃ 烘至恒重); 丹参 (本院生药室刘振通老师鉴定)、丹参注射液、丹香注射液、丹参粉针、丹参滴注液、复方丹参片 (市售), 其余试剂均为分析纯。

2. 对照品溶液的配制

精密称取在 105℃ 干燥至恒重的原儿茶醛对照品 55.60mg, 用 70% 的乙醇溶解, 转移至 50ml 的量瓶中, 加 70% 的乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取此液适量稀释成每 1ml 含原儿茶醛 11.12 μ g 的对照品溶液。

3. 实验条件的考查

(1) 测定波长。

分别配制一定浓度的原儿茶醛对照品及丹参和丹参制剂供试品, 显色前后, 分别在 200~900nm 内记录吸收光谱。结果表明, 原儿茶醛对照品、丹参和丹参各种制剂供试品显色前在可见区均无吸收, 显色后在 730nm 处均有最大吸收。故选择 730 nm 为测定波长。

(2) 溶剂。

本文考察了用不同浓度的盐酸和 1mol/L 的冰醋酸溶液分别做溶剂, 结果显示, 用盐酸做溶剂显色稳定性较差, 且稳定时间较短; 而在 1mol/L 的冰醋酸溶液中显色稳定性好, 且稳定时间足以满足测定要求, 故选用 1mol/L 的冰醋酸做为溶剂。

(3) 十二烷基硫酸钠 (SDS) 加入量。

十二烷基硫酸钠是表面活性剂, 可增加溶液的表面张力, 有助于显色剂沉淀的溶解, 增强显色的稳定性。在其它实验条件固定的情况下, 改变十二烷基硫酸钠的加入量, 配制系列测定溶液, 分别测定其吸光度。结果表明, 0.01mol/L 十二烷基硫酸钠溶液加入体积为 0.8~0.9ml 时溶液显色稳定性最好, 故最佳加入体积定为 0.8ml。

(4) 铁氰化钾 - 三氯化铁显色剂加入量。

铁氰化钾 - 三氯化铁显色剂是 0.6% 铁氰化钾溶液和 0.9% 三氯化铁溶液使用前按 0.9:1.0 混合而成, 临用前现配。其它实验条件不变, 只改变显色剂的加入量, 配制系列测定溶液, 分别测定吸光度。结果表明, 显色剂加入体积在 0.4ml~0.5ml 吸光度值最大且稳定, 故选择加入体积为 0.4ml。

(5) 稳定性

吸取一定浓度的原儿茶醛对照液 1.4ml, 加入 70% 的乙醇至 2ml, 0.01mol/L 十二烷基硫酸钠溶液 0.8ml, 铁氰化钾 - 三氯化铁显色剂 0.4ml, 摇匀, 暗处静置 5min, 用 1mol/L 的冰醋酸稀释至 10ml。在 730nm 处每隔 5min 测定吸光度。结果表明, 在 30min 显色达到稳定, 且稳定时间达 50min 左右, 故选择最佳显色时间为 30min。

4. 标准曲线的绘制

精密吸取对照品溶液 0.0、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6ml 分别置 10ml 量瓶中, 加 70% 的乙醇至 2ml, 再各加 0.01mol/L 十二烷基硫酸钠溶液 0.8ml, 铁氰化钾 - 三氯化铁显色剂 0.4ml, 摇匀, 暗处静置 5min, 用 1mol/L 的冰醋酸稀释至 10ml, 在暗处静置 30min。以空白溶液作参比, 置 1cm 的吸收池中, 在 730nm 处测定吸光度, 以浓度对吸光度值建立回归方程为: $A = 0.05237C + 0.07654$ ($r = 0.9998$); 原儿茶醛在 0.4448~2.002 μ g/ml 范围内呈良好的线性关系。

5. 样品的含量测定

精密称取丹参药材细粉 (过 60 目筛) 3.9377g, 加 10 倍量水, 煎煮 2h, 冷却过滤, 加等体积无水乙醇, 静置过夜, 抽滤, 适量水洗涤残渣, 合并滤液, 用水定容至 100ml 量瓶中, 取 5.00ml 用水稀释至 50ml, 作为丹参药材样品液。

准确吸取丹参注射液、丹香注射液、丹参滴注液适量, 分别用 70% 乙醇稀释至 50ml, 摇匀, 得上述各制剂样品液。

准确称取丹参粉针 (冻干粉) 适量, 用 70% 乙醇稀释至 50ml, 摇匀, 得丹参粉针样品液。

取复方丹参片 20 片, 去糖衣, 精密称重, 求出平均片重, 研成细粉, 精密称取细粉适量 (约 5 片量)

于具塞 50ml 的三角瓶中,加蒸馏水 30ml,振摇 10min,超声 30min,转移至 100ml 量瓶中,用蒸馏水反复洗涤三角瓶,洗涤液并入量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,过滤,续滤液作为复方丹参片的样品液。

分别量取各样品液适量,用 70% 乙醇稀释至 2ml,按标准曲线项下操作,按线性回归方程计算含

量。结果见表 1。

6. 加样回收率的测定

精密吸取样品液适量平行 7 份,共两组。一组按样品测定项下的方法测定,其测定的均值作为基础值,另一组分别精密加入不同量的对照品溶液,再按样品测定项下的方法操作。

按标准加入法计算回收率,结果见表 2。

表 1 丹参及其制剂中水溶性酚酸总量测定结果

制剂	生产厂家	批号	平均含量 (mg/ml, %, mg/片)	RSD(%) n=5
丹参药材	产地四川		1.56	1.5
丹参注射液	上海 JU 厂	940713	6.399	2.2
	成都 TTS 厂	030302	2.055	1.3
	江苏 XK 厂	841230	8.998	1.8
	杭州 ZD 药业	0407283	0.9186	1.1
	杭州 ZD 药业	0408175	1.007	1.5
丹香注射液	上海 ZX 药业	0401101	4.449	2.0
	上海 TY 药业	040164	5.004	2.1
		030838	3.458	2.0
		030902	3.767	1.6
	上海 ZX 药业	0311125	4.128	0.47
丹参滴注液	山西 JX 厂	200405104	2.805	0.93
	上海 HY 药业	04081103	0.6136	2.2
丹参粉针	上海 HY 药业	0404283	0.6627	1.6
	哈尔滨 ZYR 厂	040408	9.552	0.26
复方丹参片	哈尔滨 ZYR 厂	040508	9.480	1.2
	广东 YL 药业	040301	2.379	1.2
	广东 YK 药业	031101	0.8481	1.7

表 2 回收率测定结果

编号	加入量 C/ $\mu\text{g} \cdot 10\text{ml}^{-1}$	测得量 C/ $\mu\text{g} \cdot 10\text{ml}^{-1}$	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	3.336	3.319	99.49		
2	3.781	3.743	99.00		
3	4.226	4.299	101.7		
4	4.670	4.669	99.98	100.0	0.93
5	5.115	5.114	99.98		
6	5.560	5.520	99.28		
7	6.005	6.049	100.7		

二、讨论

铁氰化钾-三氯化铁显色法是利用原儿茶醛酚羟基的还原性,使铁氰化钾-三氯化铁试液生成普鲁士蓝沉淀(一定比例条件下),该沉淀在强酸性溶液中溶解。溶剂的酸性对显色反应的稳定性有较大影响,本文曾对不同溶剂进行比较,结果表明:采用 1mol/L 的冰醋酸做溶剂显色更稳定,且稳定时间达 1h 左右,足以满足测定要求。

铁氰化钾-三氯化铁显色剂的用量对显色的稳定性有影响,用量过大,显色后稳定性下降,经考查选用 0.4ml 为最佳用量。显色剂放置时间过长,产生沉淀,宜临用前现配。

实验数据表明,市售相同厂家、不同批号的丹参制剂中活性成分含量接近,但不同厂家的制剂活性成分相差悬殊,建议制定或完善丹参制剂的统一质量标准。

参考文献

- 1 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用. 北京:学苑出版社,1995.
- 2 徐国钧. 生药学. 北京:人民卫生出版社,1990.
- 3 李广胜,王光新,赵牛和. 丹参口服液中总酚酸性成分的含量测定. 时珍国医国药, 2001, 12(8):683.

(责任编辑:左 向)

Separation science is a new boundary one of crossdisciplines. As a key downstream bio – engineering technology separation technology has been widely used in the research and production in the areas of biology and chemistry of the world at present due to its richness and variety as well as its efficiency and advance, and therefore has become the key universal technology in the areas of research and development of modern Chinese medicine. This article systematically discusses the progress and related problems in the research and application of separation principles and technology in such areas as the selection and determination of separation objectives of Chinese medicine, the nature of Chinese medicine to be used for separation and the principles of design of separation poly – technology of Chinese medicine.

Key Words: modern separation science, traditional Chinese medicine, separation principlies

Determination of Total Content of Water – soluble Phenolic Acid in Radix Salviae Miltiorrhizae and its Preparations

Cao Dong, Huang Xiru, Liu Zhentong and Fan Guimin (Teaching and Research Section of Analytical Chemistry, School of Materia Medica, Hebei University of Medical Sciences, Shijiazhuang 050017)

Objective To study how to establish a method for the determination of the total content of water – soluble phenolic acid in Radix Salviae Miltiorrhizae and its preparations in order to control their inherent quality. **Method** To determine the total content (calculated according to protocatehualdehyde) of water – soluble phenolic acid in Radix Salviae Miltiorrhizae and its prepravations by the way of chromogenic reaction of water – soluble phenolic acid and kalium ferricyanide – iron chloride in the solvent of 1mol/L ice acetic acid, i. e., the colorimetric method. **Result** Good linear relationship appears when the content of protocatehualdehyde is between 0.4448 – 2.00 μ g/ml. The regression equation is: $A = 0.05237C + 0.07654$ ($r = 0.9998$) and the rate of average recovery and the relative standard diviation (RSD) are 100% and 0.93% respectively. **Conclusion** Being simple and quick in application, accurate in result and fine in reappearance this method can be used for the quality control of Radix Salviae Miltiorrhizae and its preparations.

Key Words: Radix Salviae Miltiorrhizae, preparation of Radix Salviae Miltiorrhizae, protocatehualdehyde, total content of water – soluble phenolic acid, colorimetric method

Study of Wild Species and Protection of Rare and Endangered ones of Chinese Medicinal Materials in Guizhou Province of China

He Shunzhi (Department of Phamacy, Guiyang Institute of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002)

Gao Guilong (Department of Science and Technology of Guizhou Province, Guiyang 550002)

Wang Xiaochun (Guizhou Tonjtang Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang 550001)

Starting with the present situation and protection of rare and endangered resources of Chinese medicinal materials in Guizhou Province and combining the introduction of their varieties this article explores prololems existing in the protection of these rare and endangered resources in this province as well as relevant countermeasures dealing with them.

Key Words: Chinese medicine in Guizhou Province, resources of wild medicinal plants, exhausted variety, pro-