

# 丹参饮片及其配方颗粒中 丹参酮 II A 与丹酚酸 B 的含量比较

黄良永, 张幼林, 郑江萍

(湖北医药学院附属太和医院药学部, 湖北十堰 442000)

**[摘要]** 目的 比较丹参饮片及其配方颗粒中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量。方法 采用高效液相色谱 (HPLC) 法测定丹参饮片及其配方颗粒中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量, 比较二者含量差异。结果 配方颗粒中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量明显低于原丹参饮片的含量, 与所标示的浓缩倍数不符。讨论 原配方颗粒的生产工艺需要改进; 配方颗粒需要建立完善的质量控制方法和合理的质量标准。

**[关键词]** 丹参; 配方颗粒; 丹参酮 II A; 丹酚酸 B; 含量测定

**[中图分类号]** R286 R927.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2011)03-0369-03

丹参是我国传统医药学中应用最早和广泛的药物之一, 中医有“一味丹参饮, 功同四物汤”之说。丹参有效成分包括脂溶性成分和水溶性成分; 脂溶性成分主要是丹参酮类化合物, 以丹参酮 II A 为代表, 在抗肿瘤、心脑血管疾病、抑菌抗炎等方面具有显著的药理作用, 临床上被广泛应用于治疗感染性疾病、心脑血管疾病、糖尿病等; 而水溶性成分主要是酚酸类化合物, 以丹酚酸 B 为代表, 在抗氧化、抗凝血和保护细胞方面有显著的作用, 临床被用于治疗心血管疾病、皮肤病、肝肾疾病等<sup>[1-3]</sup>。丹参配方颗粒以丹参饮片为原料, 经水提取、浓缩、喷雾干燥而成, 临床供配方用。丹参酮类为脂溶性成分, 按传统的以水为溶媒的生产工艺, 从药材到配方颗粒, 转移率低, 笔者以丹参酮 II A 和丹酚酸 B 为指标, 采用高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 法测定丹参饮片及配方颗粒中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量, 比较二者含量差异, 改进丹参配方颗粒的生产工艺。

## 1 仪器与试剂

Dionex Ultimate 3000 高效液相色谱仪 (美国戴安公司, 低压四元梯度泵、自动进样器、多波长紫外检测器、柱温箱), 变色龙色谱工作站 (美国戴安公司), SunFire C<sub>18</sub> 色谱柱 (美国 Waters 4.6 mm × 250 mm, 5 μm), UP5200H 超声清洗机 (熊猫集团电子计量有限公司), 甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其他试剂均为分析纯。

**[收稿日期]** 2010-05-18 **[修回日期]** 2010-06-17

**[作者简介]** 黄良永 (1966-), 男, 湖北十堰人, 副主任药师, 学士, 主要从事药品检验工作。电话: 0719-8801103, E-mail huangly66@163.com。

**[通讯作者]** 郑江萍 (1968-), 女, 湖北丹江口人, 主管药师, 主要从事药品检验和药品调剂工作。电话: 0719-8801126, E-mail zhengjp68@126.com。

丹参酮 II A 和丹酚酸 B 对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110766-0518 110722-200807), 丹参饮片 (三九医药股份公司提供, 为该厂生产配方颗粒的原药材, 批号: 090401, 090502, 091001); 丹参配方颗粒 (三九医药股份公司, 批号: 0907012, 0908032, 0912241S, 1.5 g 相当于丹参饮片 10 g)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及样品的制备<sup>[4]</sup>

**2.1.1 丹参酮 II A 的测定** 色谱条件: SunFire™ C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (75: 25); 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温: 30 °C; 检测波长: 270 nm。

对照品储备溶液的制备: 精密称取丹参酮 II A 对照品 10 mg 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 (每毫升含丹参酮 II A 200 μg)。

供试品溶液的制备: 精密称取本品粉末 (过孔径 0.355 mm 药筛) 约 0.3 g (配方颗粒研成细粉, 精密称取 0.15 g), 置于锥形瓶中, 精密加入 50 mL 甲醇, 密封, 称定质量, 冷浸 24 h 后再超声震荡提取 30 min (功率 400 W, 频率 15 kHz), 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置, 过滤 (孔径 0.45 μm 滤膜), 取续滤液进样, 色谱图见图 1。

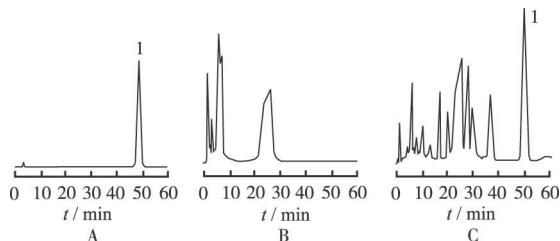


图 1 3种溶液中丹参酮 II A 色谱图

A. 对照品; B. 配方颗粒; C. 饮片; 1 丹参酮 II A

### 2.1.2 丹酚酸 B 的测定 色谱条件: SunFire™ C<sub>18</sub> 色

谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-甲酸水 (30: 10: 1: 59); 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温: 30 °C; 检测波长: 286 nm。

对照品储备溶液的制备: 精密称取丹酚酸 B 对照品 14.2 mg 置 25 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇制成每毫升含 568 μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 精密称取本品粉末 (过筛) 约 0.2 g (配方颗粒研成细粉, 精密称取约 0.1 g), 置于锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 50 mL, 密封, 称定质量, 冷浸 24 h 后再超声震荡提取 30 min (功率 400 W, 频率 15 kHz), 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置 (用孔径 0.45 μm 滤膜过滤), 取续滤液进样, 色谱图见图 2。

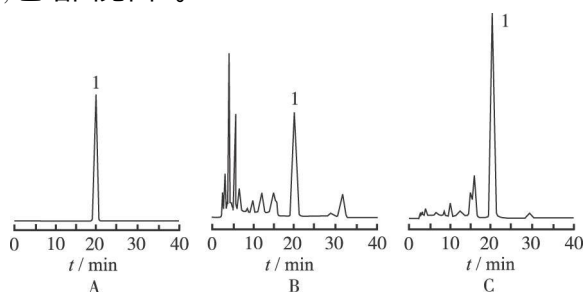


图 2 3 种溶液中丹酚酸 B 色谱图

A. 对照品; B. 配方颗粒; C. 饮片; 1. 丹酚酸 B

**2.2 标准曲线及线性关系** 精密称取丹参酮 II A 对照品储备溶液 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mL, 分别用甲醇稀释至 25 mL, 在选定的色谱条件下进样 5 μL; 精密称取丹酚酸 B 对照品储备溶液 0.25, 1.00, 2.50, 5.00, 10.00 mL, 用 75% 甲醇分别稀释成 10.0 mL, 在选定的色谱条件下进样 10.0 μL; 测得峰面积积分值, 以峰面积积分值为纵坐标, 丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的进样浓

度为横坐标, 进行线性回归。结果丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的进样浓度在 4.0~80.0 μg · mL<sup>-1</sup> 和 14.2~568.0 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内, 浓度与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为  $A_{\text{酮}} = 0.461C_{\text{酮}} - 0.1252$  ( $r = 0.9998, n = 5$ ) 和  $A_{\text{酸}} = 0.2014C_{\text{酸}} - 0.2376$  ( $r = 0.9999, n = 5$ )。

**2.3 精密度考察** 精密吸取 16.0 μg · mL<sup>-1</sup> 丹参酮 II A 对照品溶液 5 μL 和 142.0 μg · mL<sup>-1</sup> 丹酚酸 B 对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 丹参酮 II A 和丹酚酸 B 峰面积积分值的相对标准差 (relative standard deviation, RSD) 分别为 1.02% 和 0.37%。

**2.4 重复性实验** 取丹参饮片的粉末, 按样品测定法重复测定 5 次, 得平均含量: 丹参酮 II A 3.1 mg · g<sup>-1</sup> (RSD = 1.91%), 丹酚酸 B 40.3 mg · g<sup>-1</sup> (RSD = 1.27%)。

**2.5 加样回收率实验**

**2.5.1 丹参酮 II A 的回收率** 取已知含量的配方颗粒粉末 (批号: 090701) 0.15 g 和丹参药材粉末 (批号: 090401) 0.15 g 精密称定, 分别精密加入丹参酮 II A 对照品储备液 2 mL, 按样品测定的方法, 分别测定配方颗粒和丹参饮片的加样回收率, 得平均回收率分别为 97.13% (RSD = 1.27%) 和 97.63% (RSD = 1.06%), 结果见表 1。

**2.5.2 丹酚酸 B 的回收率** 取已知含量的配方颗粒粉末 0.1 g (批号 090701) 和丹参药材粉末 0.1 g (批号 090401), 精密称定, 分别精密加入丹酚酸 B 对照品储备液 8 mL, 按样品测定的方法, 分别测定配方颗粒和丹参饮片药材的加样回收率, 得平均回收率分别为 98.54% (RSD = 0.61%) 和 98.64% (RSD = 0.60%), 结果见表 1。

表 1 丹参配方颗粒和药材样品丹参酮 II A 和丹参酮 B 的加样回收率实验结果

| 样品类别 | 序号 | 丹参酮 II A |           |          |          |         | 丹参酮 B   |           |          |          |         |
|------|----|----------|-----------|----------|----------|---------|---------|-----------|----------|----------|---------|
|      |    | 取样量 / g  | 样品含量 / mg | 加入量 / mg | 测得量 / mg | 回收率 / % | 取样量 / g | 样品含量 / mg | 加入量 / mg | 测得量 / mg | 回收率 / % |
| 丹参饮片 | 1  | 0.1503   | 0.487     | 0.400    | 0.883    | 99.00   | 0.1015  | 4.461     | 4.544    | 8.965    | 99.12   |
|      | 2  | 0.1508   | 0.489     | 0.400    | 0.880    | 97.75   | 0.1102  | 4.843     | 4.544    | 9.336    | 98.88   |
|      | 3  | 0.1513   | 0.490     | 0.400    | 0.878    | 97.00   | 0.1009  | 4.435     | 4.544    | 8.865    | 97.49   |
|      | 4  | 0.1505   | 0.488     | 0.400    | 0.881    | 98.25   | 0.1010  | 4.439     | 4.544    | 8.920    | 98.61   |
|      | 5  | 0.1501   | 0.486     | 0.400    | 0.870    | 96.00   | 0.1007  | 4.426     | 4.544    | 8.909    | 98.66   |
|      | 6  | 0.1509   | 0.489     | 0.400    | 0.880    | 97.75   | 0.1011  | 4.443     | 4.544    | 8.944    | 99.05   |
| 配方颗粒 | 1  | 0.1512   | 0.000     | 0.400    | 0.384    | 96.00   | 0.1016  | 4.501     | 4.544    | 8.960    | 98.13   |
|      | 2  | 0.1517   | 0.000     | 0.400    | 0.392    | 98.00   | 0.1103  | 4.886     | 4.544    | 9.402    | 99.38   |
|      | 3  | 0.1507   | 0.000     | 0.400    | 0.393    | 98.25   | 0.1012  | 4.483     | 4.544    | 8.985    | 99.08   |
|      | 4  | 0.1511   | 0.000     | 0.400    | 0.392    | 98.00   | 0.1019  | 4.514     | 4.544    | 8.996    | 98.64   |
|      | 5  | 0.1504   | 0.000     | 0.400    | 0.389    | 97.25   | 0.1004  | 4.448     | 4.544    | 8.901    | 98.00   |
|      | 6  | 0.1521   | 0.000     | 0.400    | 0.381    | 95.25   | 0.1015  | 4.496     | 4.544    | 8.948    | 97.98   |

## 2.6 样品测定

**2.6.1 丹参酮 II A 的含量测定** 精密量取“2.2”项下丹参酮 II A 对照品溶液 ( $16.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和“2.1.1”项下的样品溶液各  $5 \mu\text{L}$  进样, 用外标法计算丹参酮 II A 的含量。结果批号为 090401, 090502, 091001 的 3 批丹参饮片中丹参酮 II A 含量分别为  $3.42, 3.13, 3.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 平均含量  $3.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 相当于原药材含量  $0.32\%$ 。批号为 090701, 0908032, 0912241S 的 3 批配方颗粒中丹参酮 II A 含量分别为  $0.000, 0.010, 0.007 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 平均含量  $0.006 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 相当于原药材含量  $0.0005\%$ 。

**2.6.2 丹酚酸 B 的含量测定** 精密量取“2.2”项下丹酚酸 B 对照品溶液 ( $142.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和“2.1.2”项下的样品溶液各  $10 \mu\text{L}$  进样, 用外标法计算丹酚酸 B 的含量。结果批号为 090401, 090502, 091001 的 3 批丹参饮片中丹酚酸 B 含量分别为  $46.68, 41.06, 44.10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 平均含量  $43.95 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 相当于原药材含量  $4.40\%$ 。批号为 090701, 0908032, 0912241S 的 3 批配方颗粒中丹酚酸 B 含量分别为  $55.04, 37.12, 40.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 平均含量  $44.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 相当于原药材含量  $0.66\%$ 。

## 3 讨论

配方颗粒中丹参酮 II A 含量几乎为零, 丹酚酸 B 的含量按原药材计算仅为  $0.66\%$ , 二者含量按原药材换算均达不到《中华人民共和国药典》2010年版<sup>[4]</sup>要求; 而丹参饮片中丹参酮 II A 平均含量为  $0.32\%$ , 丹酚酸 B 平均含量为  $4.4\%$ , 符合《中华人民共和国药典》2010年版规定的不低于  $0.2\%$  和  $3.0\%$  的要求。

丹参配方颗粒生产工艺是以水为溶媒, 经水提取、浓缩、喷雾干燥而制成; 丹参中以丹参酮 II A 为代表的脂溶性成分, 以水提, 从药材到配方颗粒, 转移率较低,

若要提高原药材的浸膏得率和配方颗粒中丹参酮 II A 的含量, 必须改进配方颗粒的生产工艺。文献报道<sup>[5]</sup>, 首选超临界二氧化碳萃取技术, 不仅脂溶性成分提取率高, 也避免醇提过程中因受热使丹参酮 II A 快速化学降解。以丹酚酸 B 为代表的水溶性成分, 在配方颗粒中含量也不达标; 为了提高提取率, 兼顾工业化大规模生产及生产成本, 文献报道<sup>[6]</sup>应采用新工艺: 水提-壳聚糖絮凝-过滤-浓缩-醇沉-萃取工艺。

中药配方颗粒在我国已经使用多年, 由于配方灵活, 患者服用方便, 深受医生和患者的欢迎。但是生产工艺的不同导致配方颗粒的质量差异很大, 有效成分的含量远低于等量药材, 与所标示的浓缩倍数不符。建议改进生产工艺, 根据药材中有效成分的性质, 制定个体化的提取生产工艺, 并建立完善的质量控制方法和合理的质量标准, 提高产品质量, 满足临床需要。

[DOI] 10.3870/yydh.2011.03.037

### [参考文献]

- [1] 杜冠华, 张均田. 丹参现代研究概况与进展(续一) [J]. 医药导报, 2004, 23(6): 355-357.
- [2] 蔡丽萍, 习志刚, 杨红. 丹参酮的药理作用和临床研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2008, 24(3): 321-322.
- [3] 杜冠华, 张均田. 丹参水溶性有效成分——丹酚酸研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2000, 20(5): 394-396.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70.
- [5] 陈培胜, 刘法锦, 郭用庄. 新技术在中药配方颗粒生产中的应用 [J]. 世界科学技术-中药现代化, 2002, 4(5): 66-67.
- [6] 张中堂, 张群林, 张云静, 等. 中药丹参有效成分的提取分离方法研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 728-729.

## 欢迎订阅 2010年《医药导报》精装合订本

2010年《医药导报》合订本烫金封面精装, 美观, 实用, 便于收藏。每套定价 180.00元, 数量有限, 本部将依汇款先后顺序寄刊, 售完为止。凡购买者请直接汇款到本刊编辑部, 并在汇款单上注明“购 2010年合订本”字样。联系电话: 027-83663559, 83643083, 83666619。