

0.8 mL·min⁻¹ 条件下进行试验, 测定结果见表 9。

表 9 不同流速的测定结果

Table 9 Measuring result of different flow velocity				
流速 /mL·min ⁻¹	绿原酸保留 时间 /T	绿原酸 含量 /%	3,5- O - 双咖啡酰基 奎宁酸保留时间 /T	3,5- O - 双咖啡酰 基奎宁酸含量 /%
1.2	3.6	0.022	5.8	0.076
1.0	4.3	0.023	6.8	0.077
0.8	5.4	0.022	8.5	0.076

结果表明, 流速主要影响峰的保留时间, 对含量测定结果影响较小。

综上所述, 本方法确定的色谱方法较好, 当色谱柱、柱温和流速发生细微变化时, 能满足系统适用性的要求, 对测定结果影响较小。

3 讨论

干眼的发病机制尚不明确, 目前普遍认为是非感染性的免疫相关性炎症, 因此, 对于有眼表面炎症的中、重度干眼, 抗炎和免疫抑制治疗十分必要, 可应用糖皮质激素滴眼, 但激素可引起眼压升高、视网膜病变等并发症而限制了它的使用^[1-2]。文献^[5]报道, 中药治疗本病取得了较好的临床效果, 因此, 深入开展中医中药防治干眼的研究十分必要。野菊花作为一种益肝明目的中药, 应用其配伍的中医经验方剂治疗干眼疗效显著, 增加基础泪液分泌效果明显, 推测治疗干眼的功效与其含有多种黄酮类成分有着密切的关系。将野菊花研制成单剂量包装不含防腐剂的滴眼液, 减少了全身用药引起的副作用, 提高了眼局部组织的药物浓度, 增强了药物疗效, 同时避免了防腐剂对眼部的损害, 该药应用于干眼患者会取得较好的临床效果。

由于野菊花难溶于水, 因此在处方中加入了增溶剂聚山梨酯 80 促进其溶解, 并增加其稳定性; 采用氯化钠作为渗透压调节剂将其调成等渗; 同时选用羟丙甲纤维素作为增稠剂, 能够增加药液的黏稠度, 使野菊花在眼部的滞留时间延长, 从而促进野菊花在眼内的吸收。

因干眼症患者的泪膜和泪道系统通常处于非正常状态, 泪液动态交换速率较正常人慢。因此, 患者不能在短时间内通过分泌泪液稀释药物中的抑菌剂, 从而延长了抑菌剂在眼表的停留时间, 在频繁、长期使用时会造成眼表损害^[6]。因此, 本制剂采用单剂量包装, 未添加任何抑菌剂, 从而避免了抑菌剂对眼表的损害。

采用该色谱条件测定野菊花的含量, 峰形较好, 主成分峰分离较好, 具有良好的专一性, 测定结果稳定, 回收完全, 方法耐用性较好。而且该制剂制备工艺简单, 质量稳定, 是一种较理想的眼用制剂, 可用于干眼等眼部疾病的治疗。

参考文献:

[1] 刘祖国. 干眼的治疗[J]. 中华眼科杂志, 2006, 42(1): 71-74.
[2] Pflugfelder SC. Anti-inflammatory therapy of dry eye[J]. Ocul Surf, 2003, 1(1): 31-36.
[3] 吴钉红, 杨立伟, 苏薇薇. 野菊花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材, 2007, 2(27): 142-144.
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 9.
[5] 陆燕, 高卫萍. 干眼症的中医经验方治疗研究[J]. 中医学报, 2010, 3(25): 597-598.
[6] 宁黎丽. 眼用制剂研发过程中应关注抑菌剂的合理使用和质量控制[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(23): 1836-1838.

(编辑: 宋威)

HPLC 法同时测定冠心 V 号颗粒中丹参素和丹参酮 II A 的含量

周芙琼, 高运军, 夏崇才, 顾 宁(南京市中医院, 江苏 南京 210001)

摘要: 目的 建立同时测定冠心 V 号颗粒中丹参素和丹参酮 II A 含量的 HPLC 方法。方法 采用高效液相色谱法, 以甲醇-0.5 %醋酸水溶液梯度洗脱, 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(4.6×250 mm, 5 μm), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 281 nm, 柱温为 35 ℃。结果 丹参素和丹参酮 II A 分别在 0.1~0.8 μg 和 0.02~0.16 μg 范围内呈良好

收稿日期: 2013-11-22
作者简介: 周芙琼, 女, 中药师, 研究方向: 中药制剂及质量标准研究。Email: qiong860612@163.com。通讯作者: 顾宁, 主任医师, 研究方向: 中西医结合心血管疾病的研究。Email: guning@medmail.com.cn。
基金项目: 南京市卫生局科技发展项目(201108005)。

的线性关系；平均回收率分别为 100.17 %和 99.35 %。**结论** 本方法简便可行、重复性好，可用于同时测定冠心 V 号颗粒中丹参素和丹参酮 II A 的含量。

关键词：高效液相色谱法；冠心 V 号颗粒；丹参素；丹参酮 II A；含量测定

中图分类号：R284.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1003-9783(2014)02-0209-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.024

Simultaneous Determination of Danshensu and Tanshinone II A in Guanxin V Granules by HPLC

ZHOU Fuqiong, GAO Yunjun, XIA Chongcai, GU Ning(Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001 Jiangsu, China)

Abstract: Objective To establish a HPLC method for the simultaneous determination of *danshensu* and tanshinone II A in *Guanxin V* Granules by HPLC. **Methods** By using HPLC, the analysis was carried out on a column of Kromasil C₁₈ (4.6 × 250 mm, 5 μm) with a gradient mobile phase of methanol and 0.5 % acetic acid at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and column temperature of 35 °C. The detection wavelength was 281nm. **Results** The linearity ranges of *danshensu* and tanshinone II A were 0.1~0.8 μg and 0.02~0.16 μg, respectively, and the average recoveries were 100.17 and 99.35 %, respectively. **Conclusion** The established method is simple and reproducible, and can be used to simultaneously determine *danshensu* and tanshinone II A in *Guanxin V* Granules.

Keywords: HPLC; *Guanxin V* Granules; *Danshensu*; Tanshinone II A; Content determination

冠心 V 号颗粒由党参、麦冬、丹参、赤芍、五味子、地黄共 6 味中药组成，具有益气养阴、凉血化瘀的功能^[1]。方中丹参所含脂溶性成分丹参酮 II A 和水溶性成分丹参素能明显的扩张冠状动脉，使其血流量显著增加，并降低心肌耗氧量，减慢心率，同时具有增加心肌收缩力等作用^[2-4]。丹参酮 II A 和丹参素含量的高低，将会影响冠心 V 号颗粒的疗效。因此，为了控制其质量，本文采用 HPLC 法对丹参酮 II A 和丹参素进行同时测定，报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱仪，Agilent VWD 型检测器，美国安捷伦公司；KQ-300DE 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；FA1104 电子分析天平，上海良平仪器仪表有限公司；1612-1 离心机，上海医疗器械有限公司。

1.2 试药 冠心 V 号颗粒，院内自制，批号：20130611，20130615，20130620；丹参酮 II A 对照品，批号：110766-200619；丹参素钠对照品，批号：111366-201305，均由中国药品生物制品检定所提供；甲醇为色谱纯，水为重蒸水，其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱：Kromasil C₁₈ 柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm)；流速：1.0 mL·min⁻¹；检测波长：281 nm；

柱温：35 °C；进样量：10 μL；流动相：甲醇(A) -0.5 %醋酸水溶液(B)梯度洗脱，洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度程序

Table 1 Gradient elution mode of mobile phase

时间 /min	流动相 A(甲醇)/%	流动相 B(0.5 %醋酸水溶液)/%
0	10	90
11	10	90
11.5	50	50
13	90	10
25	90	10
26	10	90
30	10	90

按以上色谱条件得到混合对照品溶液、样品溶液及阴性供试品溶液的色谱图，见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参素钠和丹参酮 II A 对照品适量，用 50 % 甲醇制成浓度分别为 100, 20 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液，备用。

2.3 供试品溶液的制备 称取冠心 V 号颗粒 1 g，精密称定，研匀，转移至 10 mL 容量瓶中，加入 50 % 甲醇定容至刻度，密塞，称定质量，超声 30 min，放冷，再称定质量，用 50 % 甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得供试品溶液，备用。

2.4 阴性供试品溶液的制备 参照制剂的工艺过程制

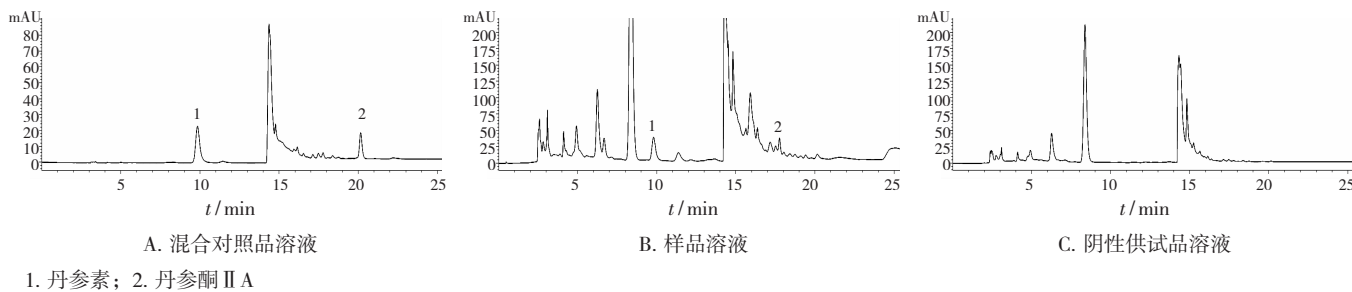


图 1 HPLC 色谱图
Figure 1 HPLC chromatograms

备缺丹参的阴性样品，按照 2.3 项下方法制备缺丹参的阴性供试品溶液。

2.5 线性范围 精密量取丹参素钠、丹参酮 II A 对照品溶液各适量至 10 mL 容量瓶中，加 50 % 甲醇稀释至刻度，摇匀，制成质量浓度分别为 50, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液，在拟定的色谱条件下，分别精密吸取 2, 4, 8, 12, 16 μL 注入超高效液相色谱仪，测定峰面积，以峰面积的积分值(Y)对混合对照品的进样量(X)制备标准曲线方程，得到标准曲线方程：丹参素钠为 $Y=43.844X+0.1738(r=1.0000)$ ，丹参酮 II A 为 $Y=19.335X-0.5832(r=0.9999)$ 。线性范围分别为 0.1~0.8 μg 和 0.02~0.16 μg 。

2.6 精密度试验 精密吸取同一份对照品混合溶液 10 μL 注入超高效液相色谱仪，连续进样 6 次，记录色谱峰面积，丹参素钠和丹参酮 II A 的 RSD 分别为 1.08 % 和 0.99 %，表明仪器的精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批号的冠心 V 号颗粒，精密称定 6 份，按拟定的含量测定方法，测得峰面积并计算含量，结果测得丹参素钠和丹参酮 II A 峰面积 RSD 分别为 0.71 % 和 1.05 %，表明重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液，室温放置，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样，记录色谱峰面积，测得丹参素钠和丹参酮 II A 峰面积的 RSD 分别为 1.16 % 和 1.74 %，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的冠心 V 号颗粒 6 份，精密称定，分别精密加入一定量的丹参素钠和丹参酮 II A 对照品溶液，按照 2.3 项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液，进样测定，计算回收率，结果见表 2。

2.10 样品测定 精密称取冠心 V 号颗粒 1 g，按照 2.3 项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件下进行含量测定，按外标法计算 3 批冠心 V 号颗粒中各成分的含量，结果见表 3。

表 2 加样回收率试验结果(n=6)

Table 2 Result of recovery test						
成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
丹参素	0.1246	0.1000	0.2263	101.70	99.5	2.31
	0.1262	0.1000	0.2251	98.90		
	0.1239	0.1000	0.2232	99.30		
	0.1205	0.1000	0.2227	102.20		
	0.1213	0.1000	0.2204	99.10		
	0.1248	0.1000	0.2206	95.80		
丹参酮 II A	0.01079	0.01000	0.02086	100.70	98.65	2.07
	0.01080	0.01000	0.02063	98.30		
	0.01094	0.01000	0.02059	96.50		
	0.01072	0.01000	0.02045	97.30		
	0.01088	0.01000	0.02104	101.60		
	0.01062	0.01000	0.02037	97.50		

表 3 冠心 V 号颗粒样品测定结果(n=3)

Table 3 Results of determination of Guanxin V Granules				
样品批号	丹参素 /mg·g ⁻¹	RSD/%	丹参酮 II A/mg·g ⁻¹	RSD/%
20130611	0.1233	1.04	0.01074	1.52
20130615	0.1228	2.31	0.01053	2.01
20130620	0.1257	1.37	0.01086	1.78

3 讨论

丹参素为水溶性物质，丹参酮 II A 为脂溶性物质，参照《中国药典》(2010 年版)及相关文献^[5-6]，分别考察了 30 % 甲醇、50 % 甲醇、75 % 甲醇、100 % 甲醇等溶剂对冠心 V 号颗粒中 2 种成分的提取率。结果表明，用 50 % 甲醇的提取效果较好，故本试验采用 50 % 甲醇为提取溶剂。

对丹参素和丹参酮 II A 进行全波长扫描，最大吸收分别在 281 nm 和 254 nm，参考文献^[7]，以 281 nm 为检测波长，丹参素和丹参酮 II A 紫外吸收均良好，有利于含量测定，故选择 281 nm 为检测波长。

我们曾考察了甲醇-水系统、乙腈-水系统和甲醇-醋酸水溶液系统作为丹参素含量测定的流动相，结果发现当以甲醇-水和乙腈-水做流动相时，

各色谱峰拖尾严重,且各峰之间分离效果较差,而以甲醇-醋酸水溶液系统做流动相后,各色谱峰峰形良好且能良好的分离。

结果证明,本方法简便可行,重现性良好,适用于冠心V号颗粒的质量控制。

参考文献:

- [1] 瞿媛. 冠心V号合剂改善冠心病患者心功能及对模型大鼠心室重构超微结构的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [2] 舒菁菁, 李菲, 董雅芬, 等. 丹参素药理作用及机制的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2012, 30(4): 266-268.
- [3] 叶剑. 丹参的药用成分与药理作用探析[J]. 陕西中医学院学报, 2012, 35(5): 71-73.

- [4] 张民, 张骅, 徐鹏, 等. 丹参酮II A的药理作用研究进展[J]. 医药导报, 2008, 27(10): 1237-1239.
- [5] 魏惠珍, 王跃生, 吴有根, 等. HPLC同时测定冠心丹参胶囊中丹参素、原儿茶醛、丹酚酸B和丹参酮II A的含量[J]. 中成药, 2009, 31(1): 64-68.
- [6] 张筱芳, 王莉. HPLC法测定养心活血片中丹参素的含量[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(5): 409-411.
- [7] 郑晓珂, 董三丽, 冯卫生. HPLC法测定丹参中丹参素、丹参酮II A、二氢丹参酮I、隐丹参酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(6): 12-15.

(编辑: 宋威)

溪黄草的定性定量方法研究

王 婴¹, 廖远忠², 林玉婷³, 林伟鑫³, 王 岩³ (1. 广东药学院医药化工学院, 广东 中山 528458; 2. 广东豪爽天然保健食品有限公司, 广东 连州 513400; 3. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 完善溪黄草的定性定量方法, 对药品质量进行有效控制。 **方法** 采用薄层鉴别法, 对溪黄草中迷迭香酸、齐墩果酸和芦丁进行鉴别。采用高效液相色谱(HPLC法)测定迷迭香酸的含量, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-0.1%磷酸溶液(30:70)为流动相; 流速为1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为330 nm; 柱温为25℃; 理论塔板数按迷迭香酸峰计算不低于4000。 **结果** TLC斑点清晰, 分离度高, 方法耐用性好; HPLC方法简便、专属性强, 迷迭香酸线性范围为1.2 μg~12 μg($r=0.9999$), 平均回收率为98.37%, RSD为1.20% ($n=6$)。 **结论** 所建立的定性、定量方法可用于溪黄草的质量控制。

关键词: 溪黄草; 薄层色谱; 高效液相色谱; 迷迭香酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)02-0212-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.025

Studies on Qualitative and Quantitative Methods for Herba Rabdosiae Serrae

WANG Ying¹, LIAO Yuanzhong², LING Yuting³, LIN Weixin³, WANG Yan³ (1. School of Pharmaceutical and Chemical Engineering, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458 Guangdong, China; 2. Guangdong Haoshuang Natural Healthy Food Co., Ltd, Lianzhou 513400 Guangdong, China; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To optimize the qualitative and quantitative methods for Herba Rabdosiae Serrae, thus to improve its quality standard. **Methods** Thin layer chromatography(TLC) was performed for identifying rosmarinci acid, oleanolic acid and rutin. Rosmarinci acid was determined by high performance liquid chromatography(HPLC). The HPLC was conducted with octadecylsilane chemically bonded silica as loading agent, acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution(30:70) as mobile phase, and the detection wavelength was 330 nm, flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and column temperature was 25℃. The number of theoretical plates for rosmarinci acid was not less than 4000. **Results** The

收稿日期: 2013-10-29

作者简介: 王婴, 女, 实验师, 研究方向: 药物新剂型与质量控制。Email: 1248322680@qq.com。通讯作者: 王岩, 男, 教授, 研究方向: 药物新剂型与质量控制。Email: gdpwuy@126.com。