

丹七片中丹酚酸 B 的含量测定

- ★ 席仲洪 胡仁胜 (雅柏药业(中国)有限公司 中山 528437)
★ 帅银花 (广东省中山市中智药业集团有限公司 中山 528437)
★ 帅金花 (江西省监狱局中心医院 330100)

关键词:丹酚酸 B;丹七片;高效液相色谱法

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

丹七片收载于部颁标准第 1 册,由丹参、三七组成,其中丹参为君药,且丹参的化学成分主要为脂溶性和水溶性两大类。水溶性成分主要为酚酸类物质:丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C、丹参酸甲(丹参素)、丹参酸乙、丹参酸丙、琥珀酸等,该类成分具有抗凝、抗血栓、抗心脑血管缺血等作用,为丹参中治疗心血管疾病的主要有效成分。原标准很低,不能很好控制该品种的质量。经文献查阅,采用 HPLC 法测定丹酚酸 B 的含量方法较多^[1~5],但丹七片中丹酚

酸 B 的含量测定未见报道。为了更好地控制本制剂的质量,确保临床疗效,我们采用 HPLC 法对制剂中丹酚酸 B 的含量进行测定。方法如下:

1 仪器与试剂

Waters1525 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);包括 1525 二元高压梯度泵、2487 双通道紫外检测器、Breeze 化学工作站;丹参酚酸 B 对照品(批号:11562-200302,供含量测定用,中国药品生物制品检定所),乙腈、甲醇(色谱纯),其它试剂均为分

表 1 治疗组与对照组疗效比较 例(%)

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)	P 值
治疗组	80	56(70.0)	13(16.2)	8(10.0)	3(3.8)	96.2	<0.05
对照组	65	34(52.3)	13(20.0)	10(15.4)	8(12.3)	87.7	

4 讨论

周围性面瘫为针灸科主要治疗病种之一,传统治疗多为面部针刺为主,疗效较明显,但取穴众多且针感疼痛,患者多难以接受。面部毛细血管丰富,针刺极易引起青紫、血肿。文献报道,早期于面部针刺有加重面神经炎水肿^[2]、诱发面肌痉挛之弊^[3]。

我国民间即有用鳝鱼血外涂患侧脸部治疗“口眼喎斜”的经验方。近代文献亦见用马钱子、皂荚、麝香等药穴位敷贴治疗面瘫,亦有一定效果,但作用面积小、药物吸收有限,且用药气厚力重,对皮肤刺激较大,易引起过敏、水泡。而本疗法采用中药面膜涂敷,内含蒲公英、白芷、薏苡仁、田七等药,有清热解毒、疏风散邪、活血通络之功。与穴位敷贴疗法相比,中药面膜作用面积大,药力能透达肌肤、直达病所、充分发挥散邪及濡养之功,有利于面神经充血、水肿的消散及神经变性的恢复。面膜凝固后有持续皮牵引作用,对口角下垂、下睑外翻症状改善颇佳。本方药性平和,经临床使用,未见过敏、起泡、色素沉着等不良反应。

“病在近者远取之”、“经络所过,主治所及”,根

据针灸经络理论,面部主为手足阳明经循行之处,手足阳明经多气多血,而合谷、足三里分为手足阳明经原穴、合穴,为经气隆盛之处。《灵枢·经筋》曰“手阳明经筋……上颊,结于颞……上左角、络头、下右颌……”故此,合谷穴有“面口合谷收”之作用。针刺合谷能疏散头面风邪、疏经通络,适用于面瘫之初、中期。针刺足三里则益土培元、调和气血、补养筋肉,适用于面瘫病程较长者。采用辨证辨期远道取穴,可避免于面部针刺但却能收到同样的治疗效果;取穴精简、仅 1~2 个穴位;施术方便;针感舒适;不诱发面肌痉挛;不加重面神经炎水肿。

采用中药面膜加远道针刺为主治疗面神经炎,远针近药,针药并举,可充分发挥针灸与药物的双重作用。本疗法适应症广,适用于各期周围性面瘫治疗,尤适合糖尿病患者、儿童及女性患者和其它惧怕针刺的患者;对肝、肾、胃肠道无毒副作用;奏效快,疗效显著,对顽固性面瘫的治疗亦有一定效果。

参考文献

- [1] House JW. Facial Nerve Grading Systems[J]. Laryngoscope, 1983, 93:1 056
- [2] 许伟. 针刺为主治疗周围性面瘫时效关系临床观察[J]. 中国针灸, 2002, 22(6):382
- [3] 孙国杰. 针灸学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000. 917

(收稿日期:2006-12-07)

析纯;丹七片:050603、050801、051007、051102、051105。

2 色谱条件

色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱(4.0 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-1.5% 甲酸溶液(25: 15: 60), 流速: 11 mL/分钟, 检测波长 286 nm, 柱温: 20 ℃, 在此条件下对照品、供试品在约 7 分钟相同时间有一色谱峰, 阴性无干扰。

3 方法学考察

3.1 提取时间的考察 取本品适量, 除去糖衣, 称定, 研细, 取约 0.3 g, 精密称定, 共 4 份, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 分别加入 50% 乙醇 25 mL, 称定重量, 超声处理 15、30、45、60 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 50% 乙醇补足减失的重量。滤过, 吸取续滤液, 即得。按上述色谱条件进行测定。结果 30 ~ 60 分钟之间无明显差异, 因此, 选 30 分钟。

3.2 溶剂用量的考察 取本品适量, 除去糖衣, 称定, 研细, 取约 0.3 g, 精密称定, 共 3 份, 置塞三角瓶中, 精密加入 50% 乙醇 15、25、50 mL, 称定重量, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 50% 乙醇补足减失的重量。滤过, 吸取续滤液, 即得。按上述色谱条件进行测定。结果三者无明显差异, 为方便实验操作, 故拟用 25 mL 进行提取。

3.3 线性关系的考察 精密称取丹参酚酸 B 对照品 5.68 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 乙醇至刻度, 摇匀, 即得每 1 mL 含 568 mg 丹参酚酸 B 的对照品溶液。取对照品溶液适量, 分别加 50% 甲醇稀释成以下浓度: 284、113.6、56.8、28.4、11.36 μg/mL, 分别吸取 10 μL, 注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定对照品峰面积, 将样品浓度与峰面积进行回归处理, 得回归方程为: $Y = 16.539\ 307\ 5X + 44.124\ 3$ $r = 0.999\ 8$ ($n = 6$), 丹参酚酸 B 对照品在 11.36 μg/mL ~ 568 μg/mL 范围内样品浓度与峰面积呈良好的线性关系。

3.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 重复进样 6 次, 测定供试品溶液中丹参酚酸 B 峰面积值, 经统计学处理, 供试品峰面积值的 RSD 为 1.2%。

3.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 每隔半小时或 1 小时, 测定供试品溶液中丹参酚酸 B 面积值, 经统计学处理, 8 小时内供试品丹参酚酸 B 峰面积值的 RSD 为 1.96%。

3.6 重现性试验 取本品适量, 研细, 取约 0.3 g, 精密称定, 共 6 份, 照含量测定项下实验方法制成供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 测定结果经数

据处理, RSD 为 0.52%。

3.7 加样回收率试验 精密称取本品细粉约 0.15 g, 共 5 份, 置 25 mL 量瓶中, 各精密加入丹参酚酸 B 对照品 1.512 mg, 加入 50% 乙醇至刻度, 余照含量测定项下实验。结果平均回收率 99.88%, RSD = 1.10%。

4 样品测定

取各样品适量, 除去包衣, 称重, 研细, 取约 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声提取 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 加 50% 乙醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取滤液, 即得; 另取丹参酚酸 B 对照品适量, 加 50% 乙醇制成每 1 mL 含 100 μg 的对照品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液、对照品溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪中, 即得。结果见表 1。

表 1 丹七片中丹参酚酸 B 含量

批号	丹参酚酸 B 含量/mg · 片 ⁻¹
050603	3.056
050801	2.299
051007	2.726
051102	3.319
051105	3.090

5 讨论

丹参酚酸 B 为水溶性成分, 文献^[1-6]报道丹参酚酸 B 的提取采用水、75% 甲醇超声提取, 因此, 我们分别比较了回流提取和超声提取方法, 并对 50% 甲醇、甲醇、50% 乙醇、75% 甲醇为提取溶剂进行了比较, 经 HPLC 测定, 两种提取方法对丹酚酸 B 的提取效果无明显差异, 为方便实验操作, 故选用超声进行提取; 同时, 提取溶剂以 50% 乙醇较佳。

该方法简便, 重现性好, 可作为丹七片的含量测定方法。

参考文献

- [1] 张启伟, 张颖, 李计萍, 等. 高效液相色谱法测定丹参中丹酚酸 B [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(12): 848
- [2] 顾洪安, 余琛, 王圣立, 等. HPLC 法测定丹参中丹酚酸 B 的含量 [J]. 药学服务与研究, 2002, 2(增刊): 302
- [3] 程显隆, 王峰, 冯玉飞, 等. 丹参中丹酚酸 B 的高效液相色谱法含量测定 [J]. 药物分析杂志, 2003, 23(2): 149
- [4] 游勇基, 陈铭辉. 高效液相色谱法测定丹参中丹酚酸 B 等 3 种有效成分 [J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(12): 940
- [5] 原文鹏, 刘林娜, 邓少伟, 等. 丹参中丹酚酸 B 的含量测定 [J]. 湖南中医杂志, 2004, 20(4): 81
- [6] 潘英妮, 袁丹, 付文卫, 等. HPLC 法测定丹参类注射液中 4 种水溶性成分含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(3): 176

(收稿日期: 2006-11-13)