

RP-HPLC 测定调血降脂丸中丹参酮 II_A 的含量

王小龙*, 叶晓娅

(河南省平顶山市食品药品检验所, 河南 平顶山 467000)

[摘要] 目的: 建立调血降脂丸中丹参酮 II_A 的含量测定方法。方法: 采用反相高效液相色谱法测定含量。色谱柱为 Diamonsil C₁₈; 流动相为甲醇-水(87: 13); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 270 nm。结果: 丹参酮 II_A 在(0.11~ 0.65) μg 范围内与峰面积成良好的线性关系($r = 0.999\ 1$); 平均加样回收率为 100.1% ($n = 5$), RSD= 0.3%。结论: 该法灵敏、准确, 重复性好, 可作为调血降脂丸中丹参酮 II_A 的含量测定方法。

[关键词] 反相高效液相色谱; 调血降脂丸; 丹参酮 II_A; 含量

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0014-03

Determination of Tanshinone II_A in Tiaoxuejiangzhi Pill by RP-HPLC

WANG Xiao-long*, YE Xiao-ya

(Pingdingshan Institute for Drug and Food Control, Pingdingshan 467000, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a RP-HPLC method for the determination of tanshinone II_A in Tiaoxuejiangzhi Pill. **Method:** The determination was performed on a Diamonsil C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was a mixture of methanol-water(87: 13), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wave length was at 270 nm. **Result:** The linear ranges of tanshinone II_A were at(0.11~ 0.65) μg ($r = 0.999\ 1$); The average recovery was 100.1%, RSD= 0.3% ($n = 5$). **Conclusion:** The method is sensitive, accurate and reproducible. It can be used to determine the content of tanshinone II_A in Tiaoxuejiangzhi Pill.

[Key words] RP-HPLC; Tiaoxuejiangzhi Pill; Tanshinone II_A; determination

调血降脂丸^[1]由丹参、山楂、泽泻等药物组成, 具有补肾活血、祛湿泻浊的功效。其质量标准中没有含量测定。本文采用反相高效液相法对方中君药丹参中的丹参酮 II_A 的含量进行了测定, 有分离度好、重复性好, 可以有效的控制该制剂的含量。

1 仪器与试剂

1.1 实验仪器 日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪; 岛津 SPD-10AVP 检测器; Cs-Light 色谱工作站; AG285 电子分析天平。

1.2 药品与试剂 丹参酮 II_A 对照品购于中国药品

生物制品检定所, 批号: 110766-200315; 水为乐百氏纯净水, 甲醇为色谱纯(天津科密欧), 其他试剂均为分析纯, 调血降脂丸自制(批号: 20070518、20070519、20070527)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(87: 13), 检测波长: 270 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 °C; 理论塔板数按丹参酮 II_A 峰计算大于 7 000, 分离度大于 2.5。

2.2 对照品溶液的制备 取丹参酮 II_A 对照品适量, 精密称定(0.006 8g), 置 50 mL 棕色的容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 作为初始液; 精密量取 3 mL, 置 25 mL 棕色瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀,

[收稿日期] 2008-03-17

[通讯作者] * 王小龙, Tel: (0375) 3178778; E-mail: pdshxl@sina.

com

即得(每 1 mL 含丹参酮 II_A 16.32 μg)。

2.3 供试品溶液的制备^[2] 取丸剂研细,精密称定 2.5 g,置具塞锥形瓶中,加甲醇 50 mL,精密称定,加热回流 1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性供试品溶液的制备 除丹参以外,其余各药按处方比例依工艺制成阴性样品,再按供试品溶液的制备方法,制得缺丹参的阴性样品溶液。

2.5 线性关系考察 精密吸取初始液 1, 2, 3, 5, 6 mL,分别置 25 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述对照品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,以峰面积(*Y*)为纵坐标,丹参酮 II_A 进样量为横坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程为 $Y=1.36 \times 10^5 X - 1.84 \times 10^3$,结果表明丹参酮 II_A 在(0.11~ 0.65) μg 范围内线性良好。

2.6 精密度试验 取丹参酮 II_A 对照品,在上述色谱条件下,连续进样 5 次,测得丹参酮 II_A 峰面积的 RSD= 0.65%,表明精密度良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取对照品溶液,在 0, 1, 2, 4, 6, 8 h,进样 6 次,进样量为 20 μL,测得峰面积值, RSD= 0.9% (*n* = 6),结果表明丹参酮 II_A 在 8 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品,按“2.3”项下方法制备 5 份供试液,测定含量, RSD= 1.3%,表明此法重复性良好。

2.9 干扰试验 分别吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液各 20 μL,按上述色谱条件分别进行测定,丹参酮 II_A 与其它组分能达到基线分离,阴性对照液无干扰。对照品溶液、样品溶液与阴性样品溶液色谱图见图 1。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知丹参酮 II_A 含量同一批号的样品(20070518) 5 份,置具塞锥形瓶中;另取丹参酮 II_A 适量,精密称定,加甲醇制成浓度为 0.623 4 mg•mL⁻¹ 的溶液,分别加入上述具塞锥形瓶中各 1.0 mL,挥干甲醇;按供试品制备及含量测定的方法进行测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

样品号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.649 9	0.623 4	1.275 3	100.3		
2	0.653 0	0.623 4	1.273 3	99.5		
3	0.650 1	0.623 4	1.276 1	100.4	100.1	0.3
4	0.647 9	0.623 4	1.274 9	100.6		
5	0.650 0	0.623 4	1.271 7	99.7		

2.11 样品测定 取 3 个批号样品,按“2.3”项下方法制备,分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定丹参酮 II_A 含量,3 批样品(批号: 20070518, 20080519, 20070527)的含量分别为 0.14 mg•g⁻¹、0.15 mg•g⁻¹、0.17 mg•g⁻¹。

3 讨论

丹参主要成分为酚酸类和二萜类。丹参素的保留时间很小,出峰早,与旁边的峰分离不好;原儿茶醛是水溶性成分,在此提取条件下含量太小,不宜作含量测定;丹参酮 II_A 的峰信号强度大,且分离效果好,故选取丹参酮 II_A 进行含量测定。

流动相的选择以甲醇-水(75: 25)^[3] 进行测定时,保留时间为 50 min,时间过长,经过对不同比例流动相进行试验,结果表明:以甲醇-水(87: 13)为流动相的色谱分离条件,可得到较好的分离,为最佳色谱条件。

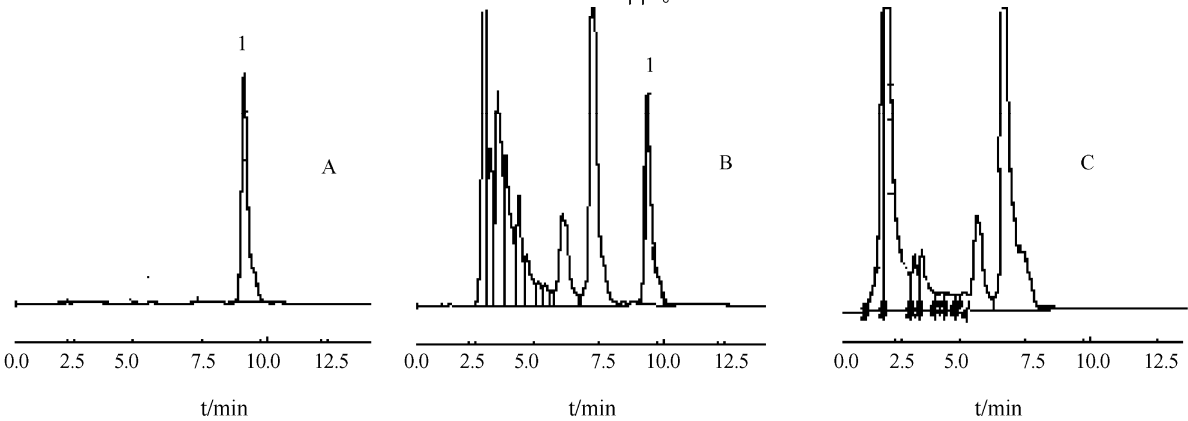


图 1 调血脂丸 HPLC 色谱图
A. 丹参酮 II_A 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 丹参酮 II_A

供试品的制备方法曾选用超声处理,结果测得的含量低于热回流法,故本文采用热回流 1 h 的方法。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北

京: 化学工业出版社, 2005. 52, 527.

[2] 张家明, 陈耀祖, 李伯刚, 等. 丹参化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 22(2): 104-106.

[3] 王启砚. HPLC 法测定宁神补心片中丹参酮 II_A 的含量[J]. 中国药师, 2003, 6(12): 790.