

## RP-HPLC 测定丹芎滴丸中丹参酮<sub>A</sub>

聂阳<sup>1\*</sup>, 李苑新<sup>2</sup>, 刘燕<sup>1</sup>, 甘柯林<sup>1</sup>

(1. 肇庆医学高等专科学校药剂教研室, 广东 肇庆 526020; 2. 广东药学院中药开发研究所, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立测定丹芎滴丸中丹参酮<sub>A</sub> 含量的高效液相法。方法: 选用 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (88:12), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 268 nm。结果: 丹参酮<sub>A</sub> 在 4.48 ~ 89.6 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好, 平均回收率为 99.76%, RSD 为 1.45%。结论: 本方法简便可行、重复性好, 可用于滴丸中的丹参酮<sub>A</sub> 含量测定。

[关键词] 丹芎滴丸; 反相高效液相色谱法; 丹参酮<sub>A</sub>

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0062-02

## Determination of Tanshinone<sub>A</sub> in Danxiong Dropping Pills by RP-HPLC

NIE Yang<sup>1\*</sup>, LI Yuan-xin<sup>2</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, GAN Ke-lin<sup>1</sup>

(1. Pharmaceutical school, Zhaoqing medical college, Guangdong Province Zhaoqing 526020, China;

2. Research & Development Institute of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical college, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract] Objective:** To establish the HPLC method for determining tanshinone<sub>A</sub> in danxiong dropping pills. **Method:** The analysis was carried out on a column of Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with a mobile phase of methanol-water (88:12) at the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 268 nm. **Result:** Tanshinone<sub>A</sub> was linear in range of 4.48 ~ 89.6 μg·mL<sup>-1</sup>. The average recovery was 99.76% and RSD was 1.45%. **Conclusion:** The method can be used to determine tanshinone<sub>A</sub> in danxiong dropping pills.

**[Key words]** Danxiong dropping pills; HPLC; tanshinone<sub>A</sub>

丹芎滴丸的处方来源于临床验方, 由丹参、川芎、红花、甘草等 4 味中药组成, 具有理气活血、补益心肾的功效, 主要用于冠心病、心绞痛的治疗。滴丸具有起效迅速、生物利用度高、服用方便等特点, 可用于中医急症、重症的治疗<sup>[1]</sup>。丹芎滴丸由处方药材提取物和聚乙二醇研制而成, 本文采用 RP-HPLC 法测定丹参酮<sub>A</sub> (tanshinone<sub>A</sub>, TAN<sub>A</sub>) 的含量, 为滴丸质量控制提供准确、可靠的测量方法。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC (美国 Agilent 公司); BP211D 电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); KQ218 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 800 低速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂)。丹芎滴丸 (自制, 批号 20080621, 20080622, 20080623); TAN<sub>A</sub> 对照品 (中国药

品生物制品检定所, 批号 0766-200012); 甲醇 (美国 fisher 公司, 色谱纯); 水 (自制三重蒸馏水)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (88:12), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25℃, 检测波长 268 nm, 理论塔板数按 TAN<sub>A</sub> 色谱峰计大于 3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 TAN<sub>A</sub> 对照品 11.2 mg, 加甲醇配制成 0.224 g·L<sup>-1</sup> 的储备液, 置冰箱 4℃ 贮存。精密吸取储备液 1 mL, 加甲醇稀释至 50 mL, 混匀, 即得 TAN<sub>A</sub> 对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取丹芎滴丸 20 丸 (20 mg/丸), 研细, 精密称取 100 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 先浸渍 5 min, 再超声 10 min, 静置冷却, 以甲醇补足损失体积, 离心 (3 000 r·min<sup>-1</sup>) 15 min。取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

**2.4 阴性对照品溶液的制备** 按处方比例称取除

[收稿日期] 2009-12-16

[通讯作者] \* 聂阳, Tel: 13760735487, E-mail: yang-020@ hot-mail.com

去丹参的其他药材适量,依丹芎滴丸的制备工艺和供试品溶液的制备方法处理,即得阴性对照品溶液。

**2.5 专属性考察** 分别取 TAN<sub>A</sub> 对照品、供试品和

阴性对照品溶液各 10 μL 进样,记录色谱图(图 1)。结果表明,样品中 TAN<sub>A</sub> 与其他组分能很好的分离, TAN<sub>A</sub> 保留时间约为 13 min, 阴性试验表明无干扰。

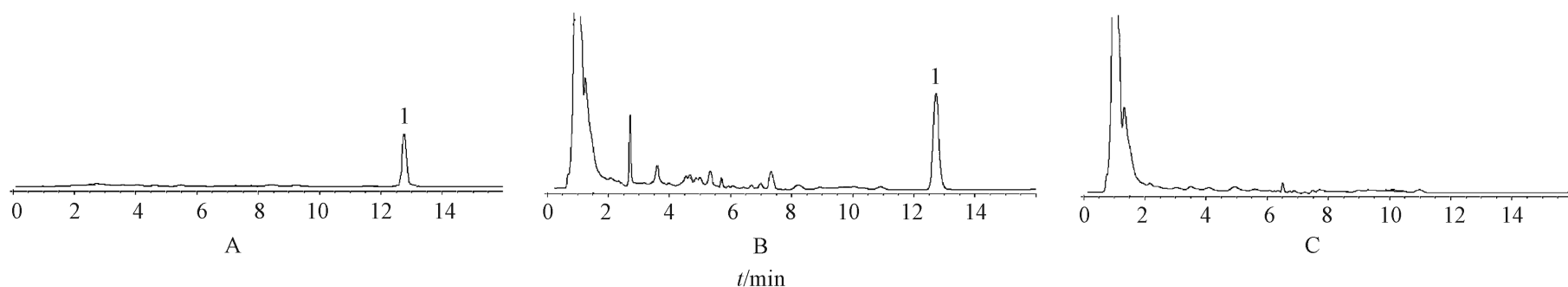


图 1 丹芎滴丸含量测定 HPLC 色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照品溶液; 1. TAN<sub>A</sub>

**2.6 线性关系考察** 精密吸取 TAN<sub>A</sub> 储备液 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 mL 分别加甲醇稀释至 25 mL, 混匀。吸取上述各液 10 μL 进样测定。以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归,得回归方程  $Y = 1.71 \times 10^4 X - 3.16 \times 10^2$ ,  $r = 0.9997$ 。结果表明 TAN<sub>A</sub> 对照品在 4.48 ~ 89.6 μg·mL<sup>-1</sup> 与峰面积线性关系良好。

**2.7 精密度试验** 吸取对照品溶液 10 μL 进样测定,连续进样 5 次,记录每次进样的峰面积。结果 TAN<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 1.48%,表明仪器精密度良好。

**2.8 重复性试验** 取同一批的丹芎滴丸(20080621) 5 份,按上述供试品溶液的制备方法处理。分别吸取供试品溶液 10 μL 进样测定,记录峰面积。结果 TAN<sub>A</sub> 含量的 RSD 0.45%,表明本法的重复性良好。

**2.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液,室温下放置 0, 4, 8, 12, 16, 24 h, 分别进样 10 μL 测定,记录峰面积。结果 TAN<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 0.45%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.10 回收率试验** 精密称取已知质量分数丹芎滴丸的同一批供试品 100 mg, 分别精密加入一定量的 TAN<sub>A</sub> 储备液,按供试品制备方法处理,平行操作 6 份,进样 10 μL 测定含量,计算回收率,结果见表 1。三水平 6 次试验的加样回收率测定结果在 95% ~ 105% 之间,其平均值为 99.69%, RSD 为 1.44%,表明该方法具有较好的回收率,测定方法可靠。

**2.11 样品的含量测定** 取 3 批丹芎滴丸各 3 份,按供试品的制备方法处理,分别进样测定,计算丹芎滴丸中 TAN<sub>A</sub> 的含量,结果平均含量为 38.01, 37.44, 37.82 μg/丸。

### 3 讨论

对于样品的提取方法,比较了甲醇加热回流提

表 1 丹芎滴丸中 TAN<sub>A</sub> 加样回收率试验 (n=6)

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD /%
0.1048	0.1975	0.0448	0.2451	101.6		
0.0987	0.1860	0.0448	0.2308	100.02		
0.1043	0.1966	0.0448	0.2374	98.35		
0.1012	0.1907	0.1120	0.2960	97.78		
0.1002	0.1888	0.1120	0.3076	102.25	99.69	1.44
0.0965	0.1819	0.1120	0.2914	99.17		
0.1061	0.1999	0.2240	0.4262	100.53		
0.1050	0.1978	0.2240	0.4182	99.12		
0.1019	0.1920	0.2240	0.4109	100.79		

取与甲醇超声提取<sup>[2]</sup>两种方法,结果表明 TAN<sub>A</sub> 在加热回流过程中会有损失,故选择甲醇超声提取法。对超声处理方法也进行了比较,结果表明先浸渍 5 min,再超声 10 min 提取,能够使有效成分提取完全。既减少了甲醇的损失,又缩短了实验时间。

本实验流动相为甲醇-水(88:12),在此流动相条件下 TAN<sub>A</sub> 具有良好的峰形,保留时间在 13.0 min 左右,其他成分对其无干扰。本实验曾用乙腈-水为流动相,但供试品中其他成分对 TAN<sub>A</sub> 干扰较大,色谱峰不能分开,故最终选择具有良好分离度的甲醇-水(88:12)作为本实验的流动相。

本实验建立的 RP-HPLC 法,使用简单的体系就能达到分离测定的目的,方法稳定,结果准确,可作为滴丸中 TAN<sub>A</sub> 的含量测定方法。

### [参考文献]

- [1] 董方言. 现代实用中药新剂型新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 193.
- [2] 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.

[责任编辑 顾雪竹]