

HPLC 测定山七降脂通脉胶囊中丹参酮_A 和丹酚酸 B 的含量

李庆斌^{*}, 唐丽丽², 黄英栋, 谭小勇
(韶关市药品检验所, 广东 韶关 512028)

[摘要] 目的: 建立山七降脂通脉胶囊的质量标准。方法: 采用 HPLC 法测定制剂中丹参酮_A 及丹酚酸 B 的含量。结果: 丹参酮_A 在 0.051 ~0.255 mg·L⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9992$); 丹酚酸 B 在 0.41 ~2.07 mg·L⁻¹ 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9997$); 结论: 建立的分析方法简便可行, 专属性强, 可用于山七降脂通脉胶囊的质量控制。

[关键词] 山七降脂通脉胶囊; 丹参酮_A; 丹酚酸 B; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0083-03

Determination of Tanshinone_A and Salvianolic Acid B in Sanqi Jiangzhitongmai Capsule by HPLC

LI Qing-bin^{*}, TANG Li-li², HUANG Ying-dong, TAN Xiao-yong

(Shaoguan Institute for Drug Control, Guangdong Province Shaoguan 512028, China)

[Abstract] **Objective:** To study the qualitative and quantitative methods for Sanqi Jiangzhitongmai Capsule.

Method: The content of tanshinone_A and salvianolic acid B was determined by HPLC. **Result:** The linear range of tanshinone_A and salvianolic acid B was 0.051 ~0.255 mg·L⁻¹ and 0.41 ~2.07 mg·L⁻¹, respectively.

Conclusion: The method set up by this study was accurate and easy to perform, and could effectively control the quality of Sanqi Jiangzhitongmai Capsule.

[Key words] Sanqi Jiangzhitongmai Capsule; tanshinone_A; salvianolic acid B; HPLC

山七降脂通脉胶囊由丹参、何首乌、山楂、泽泻等多味药材组成, 具有补肝肾, 活血化瘀, 降血脂, 抗动脉粥样硬化之功效。临床多用于治疗高血脂症、动脉硬化症、冠心病等。为了有效地控制该制剂的质量, 采用 HPLC 法测定制剂中丹参酮_A 及丹酚酸 B 的含量, 为该制剂的质量标准制订了简便可行、准确可靠的定性定量检测方法。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-2010CHT 高效液相色谱仪(四元泵, 在线脱气机, 自动进样器, 柱温箱, 可变波长检测器)、LCsoLution 工作站; DS10260 超声波清洗机(天津市东康科技有限公司)。

1.2 试药与试剂 丹参酮_A 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110766-200416); 丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110766-200416); 甲醇, 乙腈为色谱纯(FisherChemicals); 水为纯化水; 其余试剂均为分析纯; 山七降脂通脉胶囊(批准文号粤 Z20071540, 批号 20090916, 20090505, 20090112, 粤北人民医院制)。

2 方法与结果

2.1 丹参酮_A 的含量测定

2.1.1 实验条件^[1-2] 色谱柱为依利特 Hypersil ODS 柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(73:27), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 270 nm, 柱温为 25℃, 进样体积为 10 μL, 理论板数按丹参酮_A 峰计算应不低于 2 000。在此色谱条件下, 样品分离良好, 阴性无干扰, 结果见图 1~3。

2.1.2 标准曲线及线性关系考察

精密量取丹参

[收稿日期] 20100421(002)

[通讯作者] * 李庆斌, 主管药师, 从事药品质量研究, Tel: 0751-8738588

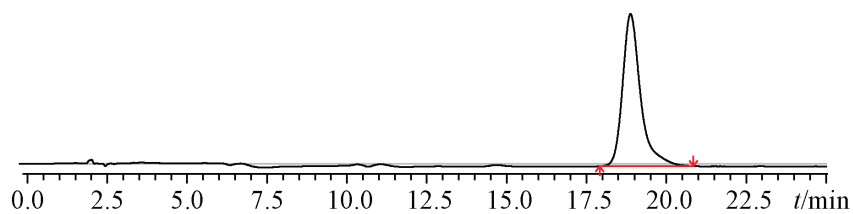


图 1 丹参酮 A HPLC 色谱图

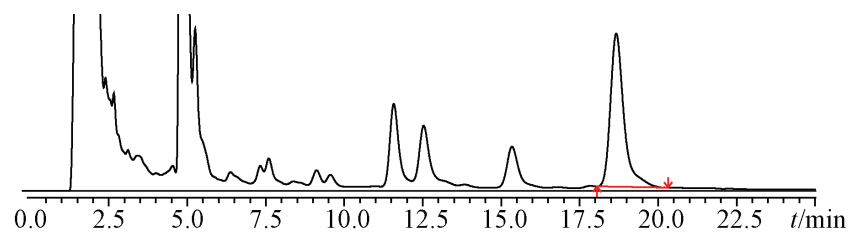


图 2 山七降脂胶囊 HPLC 色谱图

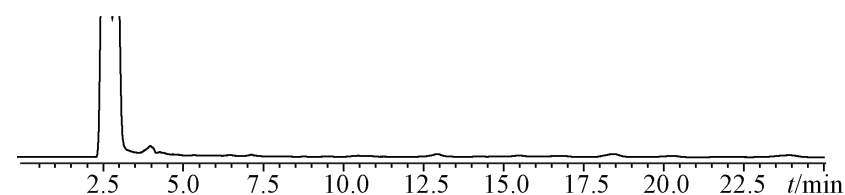


图 3 山七降脂胶囊(缺丹参) HPLC 色谱图

酮 A ($C_{19}H_{18}O_3$) 对照品适量, 加甲醇制成浓度为 $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。精密吸取对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μL 分别在上述色谱条件下进样测定, 记录色谱图。将峰面积对浓度进行线性回归, 回归方程为 $Y = 6.59 \times 10^4 X - 1.78 \times 10^3$, $r = 0.9992$, 结果丹参酮 A ($C_{19}H_{18}O_3$) 在 $0.051 \sim 0.255 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.1.3 精密度试验 取标准曲线中的对照品溶液 (浓度为 $0.0102 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 按上述色谱条件下分别进样 10 μL , 连续进样 6 次, 测得 RSD 为 0.6%。

2.1.4 重复性试验 取同一批山七降脂通脉胶囊 (批号 20090916), 按样品的制备方法制备 6 份, 同法制成供试品溶液, 测定, 记录峰面积, 测得 RSD 0.3%。表明该方法重复性较好。

2.1.5 回收率试验 取已知含量的样品 (批号 20090916, 含量为 $0.236 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约 1 g, 共 6 份, 分别加入对照品 ($0.070 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液 5.0 mL, 按样品测定法测定。进样 10 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图。计算回收率。实验结果见表 1。

表 1 山七降脂胶囊中丹参酮 A 回收率试验

No.	称样量 /g	供试品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.0077	0.2378	0.3500	0.5930	101.49		
2	1.0085	0.2380	0.3500	0.5902	100.63		
3	1.0081	0.2379	0.3500	0.5952	102.08	100.32	0.6
4	1.0072	0.2377	0.3500	0.5909	100.91		
5	1.0084	0.2380	0.3500	0.5933	101.51		
6	1.0070	0.2377	0.3500	0.5885	100.23		

2.1.6 样品测定 取本品内容物 1.0 g, 精密称定,

置具塞棕色瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 KHz) 20 min, 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, 置棕色瓶中, 即得。作为供试品溶液。另精密称取丹参酮 A ($C_{19}H_{18}O_3$) 对照品适量, 加甲醇制成浓度为 $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果见表 2。

表 2 样品中丹参酮 A 含量测定 ($n = 3$)

No.	含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			平均含量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
20090112	0.234	0.231	0.236	0.234	1.1%
20090505	0.235	0.234	0.235	0.235	0.2%
20090916	0.236	0.237	0.236	0.236	0.2%

2.2 丹酚酸 B 的含量测定^[3-4]

2.2.1 实验条件 色谱柱为依利特 HypersiL ODS 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-甲醇-甲酸-水 (10:30:1:59), 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为 286 nm, 柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样体积为 10 μL , 理论板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 4 000。在此谱条件下, 样品分离良好, 阴性无干扰, 结果见图 4 ~6。

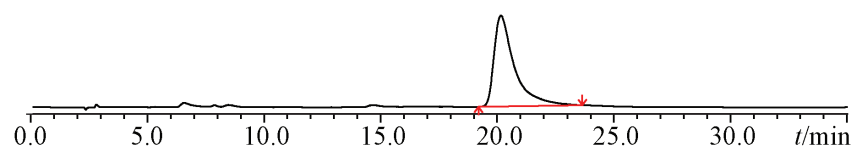


图 4 丹酚酸 B HPLC 色谱图

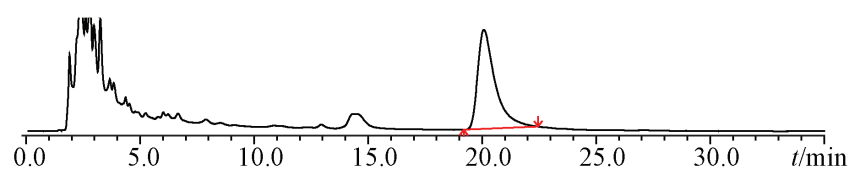


图 5 山七降脂通脉胶囊 HPLC 色谱图

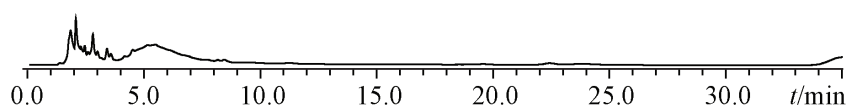


图 6 山七降脂通脉胶囊(缺丹参) HPLC 色谱图

2.2.2 标准曲线及线性关系考察 精密量取丹酚酸 B ($C_{36}H_{30}O_6$) 对照品适量, 加甲醇制成浓度为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液。精密吸取对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μL 分别在上述色谱条件下进样测定, 记录色谱图。将峰面积对浓度进行线性回归, 回归方程为 $Y = 6.20 \times 10^5 X - 2.82 \times 10^4$, $r = 0.9997$, 结果丹酚酸 B ($C_{36}H_{30}O_6$) 在 $0.41 \sim 2.07 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 取标准曲线中的对照品溶液(浓度为 $0.0828 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),按上述色谱条件下分别进样 $10 \mu\text{L}$,连续进样 6 次,测得 RSD 为 0.4%。

2.2.4 重复性试验 取同一批山七降脂通脉胶囊(批号 20090916),按样品的制备方法制备 6 份,同法制成供试品溶液,测定,记录峰面积,测得 RSD

0.9%。表明该方法重复性较好。

2.2.5 回收率试验 取已知含量的样品(批号 20090916,含量为 $0.950 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)约 0.3 g,共 6 份,分别加入对照品($0.093 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液 5.0 mL,按样品测定法测定。进样 $10 \mu\text{L}$,注入液相色谱仪,记录色谱图。计算回收率。实验结果见表 3。

表 3 山七降脂胶囊中丹参酮 A 的回收率试验

No.	称样量/g	供试品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.3047	0.2895	0.4650	0.7575	100.65		
2	0.3061	0.2908	0.4650	0.7620	101.33		
3	0.3069	0.2916	0.4650	0.7619	101.15	101.18	0.3
4	0.3075	0.2921	0.4650	0.7621	101.07		
5	0.3052	0.2899	0.4650	0.7611	101.32		
6	0.3065	0.2912	0.4650	0.7633	101.53		

2.2.6 样品测定 取本品内容物 0.3 g,精密称定,置 50 mL 棕色量瓶中,加水适量,超声处理(功率 300 W,频率 50 KHz) 30 min,放冷,加水至刻度,摇匀,离心,取上清液,即得。作为供试品溶液。另精密称取丹酚酸 B($\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_6$)对照品适量,加甲醇制成浓度为 $0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$,注入液相色谱仪,记录色谱图。结果见表 4。

表 4 样品丹酚酸 B 测定($n=3$)

样品批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
20090112	0.905	0.911	0.915	0.910	0.6
20090505	0.948	0.954	0.962	0.955	0.7
20090916	0.946	0.948	0.960	0.951	0.8

3 结果与讨论

丹参酮 A 及丹酚酸 B 在高温及日光下易降解,所以实验过程中应避光且室温不应高于 27°C 。

为了有效控制本制剂质量,建议丹参酮 A 含量不得少于 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,丹酚酸 B 含量不得少于 $0.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (按 3 批制剂平均含量的 80% 计算)。此制剂在本院已使用多年,临床降血脂功效明显,是一种较好的医院制剂。

[参考文献]

- [1] 董小平,刘舞霞,蒋晓青.薄层扫描法测定复方丹参口服液中丹参酮 A 的含量[J].江苏药学与临床研究,2000,8(2):15.
- [2] 吴冬梅.HPLC 法测定丹参中丹参酮 A 的含量[J].国际中医中药杂志,2007,29(2):86.
- [3] 陈娇婷,王跃生,杨范莉,等.HPLC 法测定心可舒胶囊中丹酚酸 B[J].中草药,2006,37(8):1181.
- [4] 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.

[责任编辑 顾雪竹]