

# HPLC 法测定丹葛颈舒片中丹参酮<sub>A</sub>的含量

刘元<sup>\*</sup>, 莫海涛<sup>2</sup>, 宋志钊<sup>1</sup>, 文志云<sup>1</sup>

(1. 广西中医药研究院, 南宁 530022; 2. 南宁市冠峰制药有限公司, 南宁 530008)

[摘要] 目的: 建立丹葛颈舒片中丹参酮<sub>A</sub>的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以 phenomenex HyperClone 色谱柱为分离柱, 以甲醇-水-冰醋酸(78 22 0.2)为流动相, 270 nm 为检测波长, 柱温为室温。结果: 丹参酮<sub>A</sub>在 0.10 ~0.60 μg 范围内, 峰面积与其浓度呈良好线性关系( $r=0.9995$ ), 平均回收率为 102.0%, RSD 为 0.25% ( $n=5$ )。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂含量测定方法。

[关键词] 丹葛颈舒片; 丹参酮<sub>A</sub>; 含量测定; 高效液相法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0084-02

丹葛颈舒片主要由黄芪、党参、当归、丹参、赤芍等中药组成, 具有益气活血, 舒经通络之功效, 用于瘀血阻络型颈椎病引起的眩晕、头昏、颈肌僵硬、肢体麻木等。丹葛颈舒片是由丹葛颈舒胶囊剂改而来, 胶囊质量标准在《国家中成药标准汇编》骨伤科分册已有收载, 但只有葛根、黄芪、当归及川芎的定性鉴别, 其含量测定均未见报道。为了控制其质量, 笔者采用 HPLC 法测定丹葛颈舒片中丹参酮<sub>A</sub>的含量, 结果令人满意。

## 1 仪器与试药

日本岛津 LC-10ATVP 液相色谱仪; 检测器 SPD-10AVP; 威玛龙色谱工作站。丹参酮<sub>A</sub>对照品(批号 110766-200501), 购于中国药品生物制品检定所。水为高纯水; 甲醇为色谱纯。样品丹葛颈舒片, 北海中联药业有限责任公司提供(批号 050315, 050316, 050317)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: phenomenex HyperClone 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm); 检测波长为 270 nm; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(78 22 0.2); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量为 10 μL; 柱温为室温。理论塔板数按丹参酮<sub>A</sub>峰计算不低于 3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取丹参酮<sub>A</sub>对照品 10.0 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度,

摇匀, 精密吸取上述对照品溶液 1.0 mL, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得(40.0 μg·mL<sup>-1</sup>)。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取 0.4 g, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 超声处理 15 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

**2.4 阴性对照溶液的制备** 按丹葛颈舒片处方和方法制备缺丹参的阴性样品, 精密称取 0.4 g, 按供试品溶液制备方法制备缺丹参阴性样品供试液。

**2.5 标准曲线及线性范围考察** 精密称定丹参酮<sub>A</sub>对照品约 10.0 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 200 μg·mL<sup>-1</sup>对照品溶液, 备用。0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样测定。以对照品进样浓度为横坐标( $X$ ), 峰面积积分为纵坐标( $Y$ )绘制标准曲线, 得回归曲线为  $Y=2.87 \times 10^6 X-1.06 \times 10^2$ , 相关系数  $r=0.9995$ 。

**2.6 精密度试验** 分别精密吸取丹参酮<sub>A</sub>对照品溶液(40 μg·mL<sup>-1</sup>)和供试品溶液(批号 050315), 进样 5 次, 依次测定, 即得。测得对照品 RSD 为 0.28%, 供试品 RSD 为 0.44%。

**2.7 重复性试验** 取同一批号(050315)样品, 按供试品溶液制备方法制备 5 份, 分别进样, 测定, 即得。结果测得丹参酮<sub>A</sub>平均含量为 1.32 mg/片, RSD 为 0.99% ( $n=5$ )。表明该方法重现性良好。

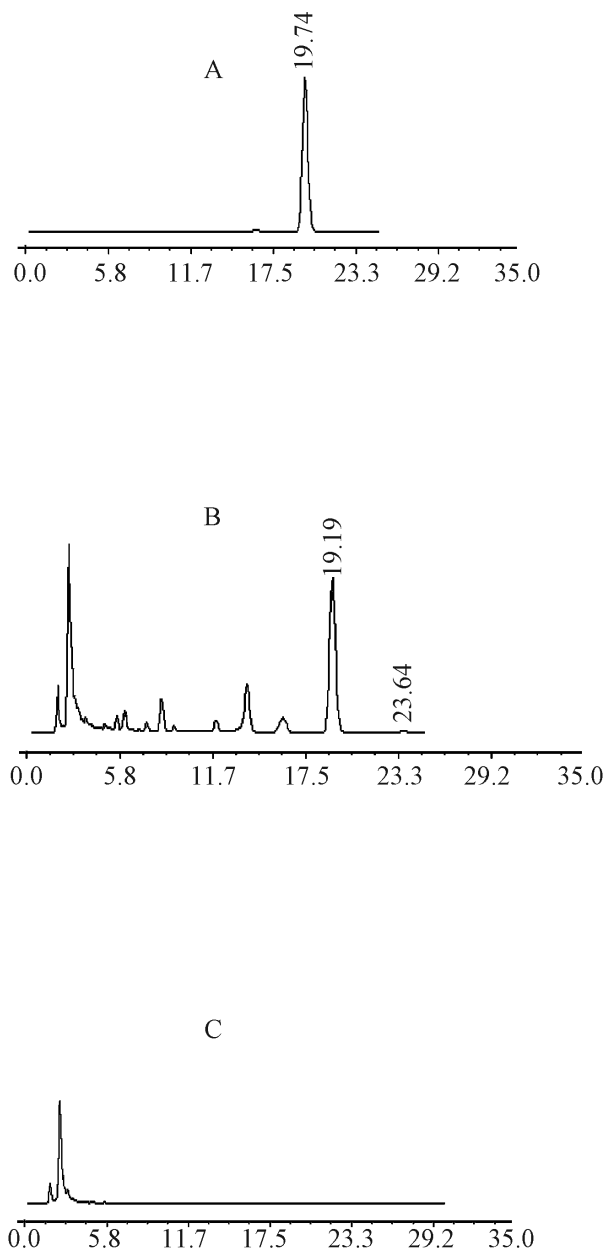
**2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液分别于 0, 4, 8, 12, 16, 20 h 进行测定, 即得。结果供试品中丹参酮<sub>A</sub>含量的 RSD 为 0.39%, 表明供试品溶液在 20

[收稿日期] 2009-05-12

[通讯作者] \* 刘元, Tel: (0771) 5868275; E-mail: liuyuan0821@vip.163.com

h 内保持稳定。

**2.9 加样回收试验** 取已测知含量(批号 050315, 1.32 mg/片)的供试品 0.2 g, 精密加入对照品, 按供试液的制备方法测定。结果丹参酮<sub>A</sub> 平均回收率为 102.0%, RSD 为 0.25% (n=5), 结果见表 1。



注: A. 丹参酮<sub>A</sub>; B. 丹葛颈舒片; C. 阴性对照

图 1 丹葛颈舒片中丹参酮<sub>A</sub> 色谱图

表 1 加样回收试验 (n=5)

No.	样品中 含量/mg	对照品 加入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.5286	0.4000	0.9374	102.2		
2	0.5279	0.4000	0.9351	100.8		
3	0.5301	0.4000	0.9393	102.3	102.0	0.25
4	0.5290	0.4000	0.9371	102.0		
5	0.5294	0.4000	0.9363	101.7		

**2.10 阴性对照实验** 按丹葛颈舒片处方和方法制备缺丹参的阴性样品, 精密吸取 0.4 g, 按供试品溶液制备方法制备缺丹参阴性样品供试液, 测定。阴性样品溶液在丹参酮<sub>A</sub> 峰位置无吸收峰出现, 即阴性无干扰, 见图 1。

**2.11 样品测定** 按供试液的制备及检测方法, 分别测定 3 个批号的样品, 结果丹参酮<sub>A</sub> 含量 (mg/片) 为 1.32, 1.01, 1.21。

### 3 讨论

本品中丹参含丹参酮<sub>A</sub> 成分, 为本方中有效成分之一<sup>[1]</sup>, 在原质量控制标准中并无任何的含量测定方法和指标。《中国药典》对丹参药材已有质量控制要求, 但目前尚未见有将 HPLC 法用于该中药制剂中丹参酮<sub>A</sub> 含量测定的报道。实验结果表明用 HPLC 法测定丹葛颈舒片中丹参酮<sub>A</sub> 的含量, 结果准确, 重复性好, 操作简便快速, 可作为丹葛颈舒片的质量控制方法。

### [参考文献]

[1] 张民, 张骅, 徐鹏, 等. 丹参酮<sub>A</sub> 的药理作用研究进展 [J]. 医药导报, 2008, 27(10): 1037.