

HPLC 法测定千斤脑康宁胶囊中丹参酮 II_A

宋志钊¹, 刘元^{1*}, 莫海涛², 文志云¹, 李星宇¹

(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: 建立千斤脑康宁胶囊中丹参酮 II_A 的质量分数测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以大连依立特 C₁₈ 色谱柱为分离柱, 以甲醇-水 (80:20) 为流动相, 270 nm 为检测波长, 柱温为室温。结果: 丹参酮 II_A 在 0.026~0.41 μg 峰面积与其浓度呈良好线性关系 ($r=0.9999$), 平均回收率为 98.3%, RSD 1.26% ($n=6$)。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] 千斤脑康宁胶囊; 丹参酮 II_A; 高效液相法

[中图分类号] R 284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0079-02

千斤脑康宁胶囊是广西中医药研究院根据广西地方民族经验方, 经筛选后进行研制的中药制剂, 主要由千斤拔、扶芳藤、鹿角胶、山茱萸等中药组成, 具有补肾益脾, 活血化痰, 健脑生髓之功效。用于脾肾两虚, 痰瘀阻络, 脑髓不足所致之痴呆疗效显著。为了更好地控制其质量, 保证临床疗效, 该实验采用 HPLC 法测定了制剂中丹参酮 II_A 的含量, 为本品质量标准的制订提供了依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 紫外检测仪; 威玛龙色谱工作站; 大连依立特 C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); KQ-100VDB 双频数控超声清洗仪。甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余所用试剂均为分析纯。丹参酮 II_A 对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号为 110766-200416; 样品: 脑康宁胶囊, 南宁市冠峰制药有限公司提供 (批号 051120, 051121, 051122, 060810, 060811, 060812, 060813, 061008, 080301))。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱大连依立特 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 检测波长为 270 nm; 流动相甲醇-水 (80:20); 流速 1.0 mL · min⁻¹; 柱温为室温。理论塔板数按丹参酮 II_A 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 II_A 对照品 10.2 mg, 置 100 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 (10.2 μg · mL⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 取样品 10 粒, 倾出内容物, 精密称定, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 超声处理 15 min (频率 45 kHz), 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 按千斤脑康宁胶囊处方制备缺丹参的阴性样品, 精密称取 0.5 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 精密称取丹参酮 II_A 对照品 10.2 mg, 置 100 mL 量瓶中用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液 (102 μg · mL⁻¹), 备用。分别精密吸取上述对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样 10 μL, 测定。以丹参酮 II_A 对照品进样量 μg 为横坐标 (X), 峰面积积分值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 3.13 \times 10^6 X - 3.71 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。丹参酮 II_A 进样量在 0.026~0.41 μg 与峰面积积分值线性关系。

2.6 精密度试验 分别吸取同一供试品溶液, 进样 5 次, 依次测定, 即得。测得供试品 RSD 0.15%。

2.7 重复性试验 取同一批号 (061008) 样品, 按供试品溶液制备方法制备 6 份, 分别进样, 测定, 即得。结果测得丹参酮 II_A 含量为 0.265 mg/粒, RSD 0.41% ($n=6$)。表明该方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0, 4,

[收稿日期] 2009-07-03

[基金项目] 广西科技攻关项目 (桂科攻 0537018-13)

[第一作者] 宋志钊, 男, 助理研究员, Tel: (0771) 5868275, E-mail: songzhizhao1978@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 刘元, 女, 高级实验师, 新药开发, Tel: (0771) 5868275, E-mail: liuyuan0821@vip.163.com

8, 12, 16 h 进行测定, 即得。结果供试品中丹参酮 II_A 含量的 RSD 0.44%, 表明供试品溶液在 16 h 内保持稳定。

2.9 加样回收试验 取已测知(0.265 mg/粒, 批号 061008)的供试品 0.25 g, 精密加入丹参酮 II_A 对照品溶液(102 μg · mL⁻¹)1.3 mL, 按供试液制备项下的方法制备。结果丹参酮 II_A 平均回收率为 98.3%, RSD 为 1.26% (n=6), 结果见表 1。

2.10 阴性对照实验 按千斤脑康宁胶囊处方和方法制备缺丹参的阴性样品, 精密称取 0.5 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 II_A 峰位置无吸收峰出现,

表 1 丹参酮 II_A 加样回收率 (n=6)

样品中含量 / μg	对照品加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
132.9	132.6	263.2	98.3		
134.2	132.6	262.7	96.9		
132.6	132.6	263.8	98.9		
132.9	132.6	263.7	98.9	98.3	1.26
132.7	132.6	265.7	100.2		
133.7	132.6	262.4	97.0		
132.8	132.6	263.1	98.3		

即阴性无干扰。

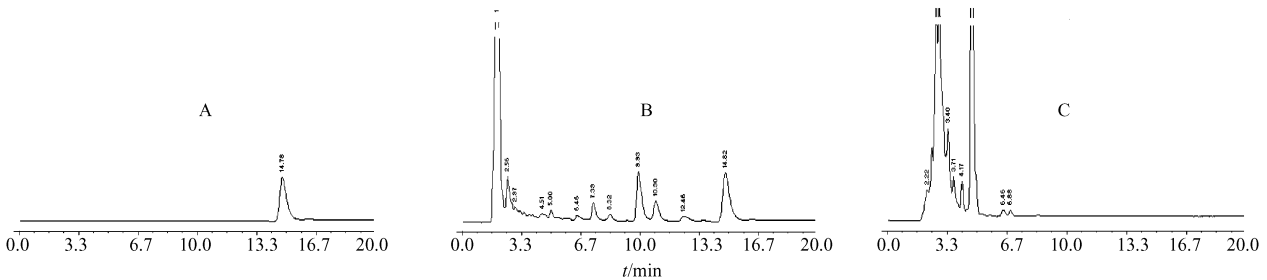


图 1 千斤脑康宁胶囊中丹参酮 II_A 色谱

A. 丹参酮 II_A; B. 千斤脑康宁胶囊; C. 缺丹参阴性对照

2.11 样品测定 按供试液的制备及检测方法, 测定不同批号样品(051120, 051121, 051122, 060810, 060811, 060812, 060813, 061008, 080301), 结果丹参酮 II_A 分别为 0.286, 0.262, 0.314, 0.217, 0.238, 0.270, 0.258, 0.266, 0.352 mg/粒。

3 讨论

丹参的脂溶性成分丹参酮 II_A 具有抗血小板聚集作用、抗血栓作用和对实验性心肌缺血和再灌注损伤具有保护作用, 能不同程度地改善小鼠因东莨菪碱所致的记忆损害^[1]。因此测定本品中丹参酮 II_A 的含量可更好地控制产品质量。

对丹参酮 II_A 对照品溶液进行紫外扫描, 结果其在 270 nm 处有最大吸收, 故确定检测波长为 270 nm。参照《中国药典》2005 年版一部丹参药材及复方丹参片中丹参酮 II_A 测定方法^[2], 以甲醇-水为流动相, 考察多个比例, 最后确定甲醇-水(80:20)的比例较为适合。

采用超声处理 15 min、加热回流 1 h、索氏提取 1 h 进行提取方法考察, 3 者提取含量测定结果相差不大, 因超声提取更简便快捷, 故采用超声提取法。采用甲醇、水、50% 甲醇作提取溶剂进行考察, 结果采用甲醇提取所得含量比用 50% 甲醇、水高, 故采用甲醇作为提取溶剂。以超声提取 10, 15, 20 min 进行提取时间考察, 结果超声提取 10 min, 测得结果较低, 超声提取 15, 20 min, 两者无明显差别, 故超声提取时间定为 15 min。

[参考文献]

- [1] 刘晓军, 吴梧桐. 川芎嗪、丹参酮 II_A、泛醌和艾地苯醌对小鼠水迷宫操作的影响[J]. 中国药理学报, 1999, 20(11): 987.
- [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]