

HPLC 法测定丹参酮片中隐丹参酮含量

陈常兴

(山东医学高等专科学校, 山东 临沂 276002)

[摘要] 目的:探讨方法使用高效液相法测定其中隐丹参酮含量的方法。方法:用 HPLC 法对丹参酮片中隐丹参酮进行含量测定,并进行相关精密度、重复性、稳定性考察。结果:取丹参酮片 3 批样品,按上述方法分别测定,按外标法以峰面积计算样品中隐丹参酮的含量,结果分别为每片含隐丹参酮 31.45, 31.76, 31.81 mg。结论:该方法用于考察丹参酮片中隐丹参酮含量有分离效果好、灵敏、准确等优点,可用于该产品的质量控制。

[关键词] 丹参酮片;隐丹参酮;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)06-0114-02

本品为丹参经现代制药工艺技术提取的有效成分制成的临床用制剂,其中主要有效成分为隐丹参酮。具有抗菌消炎作用,用于骨髓炎,痤疮,扁桃体炎,外耳道炎,疥,外伤感染,乳腺炎,蜂窝组织炎等。本文讨论了使用 HPLC 法测定其中隐丹参酮含量的方法。该法具有分离效果好、灵敏、准确等优点,可用于该产品的质量控制。

1 仪器与试剂

LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-10AT 型紫外-可见检测器(日本岛津),TL9900 色谱工作站(北京泰利化电子技术有限公司)。

隐丹参酮(中国药品生物制品检定所 110852-200305),丹参酮片(自制,批号 050618, 050620, 050622)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:ApoLlo C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-水(80:20),流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 263 nm;柱温为室温。在上述色谱条件下,隐丹参酮与其相邻色谱峰的分度大于 1.5;理论板数以隐丹参酮峰计算,不低于 2 000;隐丹参酮峰的拖尾因子为 1.04,保留时间约为 8.7 min;阴性样品无干扰。见图 1。

2.2 供试品溶液制备 取本品 20 片,精密称定,研细,取片粉 0.1 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入

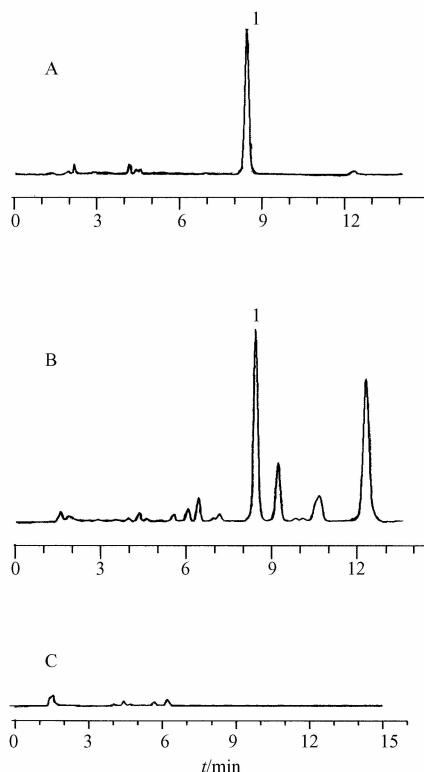


图 1 丹参酮片 HPLC 图

A. 对照品;B. 样品;C. 阴性;1. 隐丹参酮。

流动相约 35 mL,超声处理 10 min(功率 250 W,频率 50 kHz),放冷至室温,再用流动相稀释至刻度,摇匀,过滤,精密量取续滤液 2 mL,置 25 mL 量瓶中,加入流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,过滤。取续滤液,即得。

2.3 对照品溶液制备 精密称取隐丹参酮对照品适量,加流动相制成每 1 mL 含隐丹参酮 0.01 mg 的溶液,即得。

[收稿日期] 2010-01-13

[通讯作者] 陈常兴,副教授,从事化学教学与科学研究工作, Tel: (0539) 8075512, E-mail: chenctx163@163.com

2.4 线性关系考察 取隐丹参酮对照品 10 mg, 精密称定, 于 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为溶液 A, 分别精密量取溶液 A 加流动相稀释制备成每 1 mL 含隐丹参酮 0.002, 0.004, 0.01, 0.02, 0.05 mg 的溶液。分别精密量取上述供试溶液各 20 μL , 进样测定, 每个浓度测定 3 次。以峰面积对浓度进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 2 \times 10^6 X + 3.37 \times 10^5$, $r = 0.9999$ 。表明时隐丹参酮在 2.216 ~ 55.40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取对照品溶液 (10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 精密量取 20 μL , 重复测定 6 次, 求得隐丹参酮峰面积的 RSD 0.17%, 表明该法精密度较好。

2.6 稳定性试验 取同一批号的供试品溶液, 分别

在放置 0, 2, 4, 6, 8 和 24 h, 进样做色谱分析, 记录色谱图, 结果峰面积的 RSD 0.75%。说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份, 按“2.2”项下方法制得供试品溶液, 分别测定, 计算标示含量, 其 RSD 0.86%, 表明该法重复性较好。

2.8 加样回收试验 精密称取已知含量的同一批样品 20 片, 研细, 精密称取粉末 50 mg, 共 5 份, 加入对照品适量, 按 2.2 项下制成供试品溶液, 各精密量取上述溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算回收率, 得隐丹参酮的平均回收率分别为 100.6%, RSD 1.04%。见表 1。

表 1 隐丹参酮加样回收率试验

No.	取样量/mg	样品中含量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	50.94	4.61	8.67	99.51		
2	50.26	4.55	8.62	99.75		
3	50.14	4.54	8.69	101.7	100.6	1.04
4	50.55	4.58	8.73	101.7		
5	50.17	4.54	8.64	100.5		

注: 加入量均为 4.08 mg。

2.9 样品测定 取丹参酮片 3 批样品, 按上述方法分别测定, 按外标法以峰面积计算样品中隐丹参酮的含量, 结果分别为每片含隐丹参酮 31.45, 31.76, 31.81 mg。

3 讨论

检测波长的选择 取隐丹参酮对照品适量, 加流动相溶解并稀释制成每 1 mL 约含 10 μg 的溶液, 照分光光度法《中国药典》2000 年版一部附录 V) 在 200 ~ 400 nm 进行紫外扫描, 在 263 nm 处有最大吸

收, 因而选择 263 nm 作为检测波长。

供试品溶液的制备 实验中选用超声提取及回流提取方法进行提取方法比较, 结果显示超声 10 min 提取所得含量高于回流 0.5 h 提取所得含量, 因此选用回流方法。

本法分离效果好、灵敏、准确, 可用于该产品的内在质量控制。

[责任编辑 顾雪竹]