

HPLC 法测定肝平颗粒中丹参酮 II_A 的含量

邓英贤¹, 吉晓莉¹, 何希荣², 杨立新^{2*}

(1. 解放军空军总医院药学部, 北京 100036; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立肝平颗粒中丹参酮 II_A 的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相采用甲醇-水 (75: 25), 流速 1.5 mL·min⁻¹, 检测波长有 270 nm, 柱温为 35 °C。结果: 丹参酮 II_A 在 0.086 4~ 0.432 0 μg 范围线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率 96.7%, RSD 为 1.15%。结论: 该法分离好, 快速、简便, 重复性好, 可作为该产品的质量控制在方法。

[关键词] 高效液相色谱法; 肝平颗粒; 丹参酮 II_A

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)12-0011-02

肝平颗粒是由丹参、赤芍、红花 3 味中药组成的复方制剂, 具有活血化瘀, 软坚散结, 健脾益气之功效, 临床用于慢性肝炎肝纤维化瘀血内阻, 脾气虚弱证。为了有效地控制该制剂的质量, 本文采用了肝平颗粒中丹参酮 II_A 的高效液相测定方法, 为控制

该产品的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。KQ-100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。对照品丹参酮 II_A (0766-9606 Tanshinone II_A) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(Fisher 公司); 水为重蒸

[收稿日期] 2008-08-14

[通讯作者] * 杨立新, Tel: (010) 64014411-2938

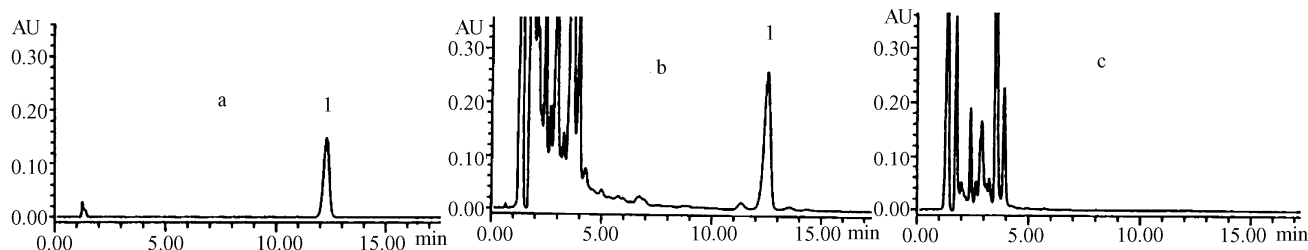
水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.5 mL · min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 35 °C, 流动相: 甲醇-水(75: 25)。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II_A 对照品 2.16 mg, 于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释, 摇匀, 制成每 1 mL 含 40 μg 的溶液, 即得对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下的



a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; c. 空白溶液; 1. 丹参酮 II_A

图 1 肝平颗粒的高效液相色谱图

2.5 线性关系的考察 取干燥至恒重的丹参酮 II_A 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 ml 含 43.2 μg 的溶液。分别精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 0.257X + 3.48 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 丹参酮 II_A 在 0.086 4~ 0.432 0 μg 范围线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件进样 10 μL, 连续进样 5 次, 定峰面积值, 计算丹参酮 II_A RSD = 0.46%。结果表明精密度良好。

2.7 稳定性考察 精密称取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 24 h 分别进样, 记录丹参酮 II_A 峰面积, 结果 RSD 为 0.62% ($n = 5$), 表明用本方法处理的溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 精密称取同一批样品 5 份, 按 2.4 项下的制备方法, 分别进行处理, 按上述色谱条件测定含量, 所测结果, 丹参酮 II_A 的平均含量 6.28 mg/袋, RSD 为 1.15% ($n = 5$)。

2.9 回收率试验 精密称取已知含量 (6.28 mg/袋即 0.628 mg/g) 同一批样品 5 份, 每份约 0.7 g, 精密称定, 分别精密加入丹参酮 II_A 对照品甲醇溶液 (9.9 μg/ml) 各 50 ml, 按 2.4 项下方法制备供试品溶液, 分别测定计算回收率, 结果表明平均回收率为 96.67%, RSD 为 1.15% ($n = 5$)。见表 1。

内容物, 研细, 取 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 20 kHz) 30 min, 放置至室温, 密塞, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 空白对照溶液的制备 取缺丹参药材的样品, 按 2.3 项下的方法制成缺丹参的对照溶液。按上述色谱条件测定, 结果空白溶液在与丹参酮 II_A 对照品相同保留时间处未见明显色谱峰。

表 1 回收率试验结果

称样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测定总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.752 0	0.472 3	0.495	0.949 8	96.46		
0.747 0	0.469 1	0.495	0.939 6	95.05		
0.732 1	0.459 8	0.495	0.944 6	97.94	96.67	1.15
0.747 1	0.469 2	0.495	0.946 7	96.46		
0.754 0	0.473 5	0.495	0.955 8	97.43		

2.10 样品测定 分别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, 按照外标法计算 3 批样品丹参酮 II_A 含量为 6.33 6.39 6.39 mg/袋。

3 讨论

丹参为肝平颗粒的君药, 且丹参酮 II_A 的含量较高, 以其作为含量测定的指标成分, 能够反映该制剂的质量, 因此, 本品以丹参酮 II_A 的含量作显质量控制的指标是合理的。

本文采用高效液相色谱测定肝平颗粒中丹参酮 II_A 的含量, 流动相参考《中国药典》^[1], 通过对加热回流、冷浸、超声处理 3 种提取方法的比较, 超声处理、加热回流丹参酮 II_A 的含量高于冷浸, 且超声处理具有快速、简便的优点, 重复性好, 故采用超声处理。

[参考文献]

[1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 57.