

HPLC法测定活血通脉片中丹参酮IIA的含量

杨允辉¹, 张 村²

(1 河南商城县人民医院, 河南 商城 465350; 2 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 目的: 测定活血通脉片中丹参酮IIA的含量。方法: HPLC法: 以C₁₈为填充柱, 甲醇-水(80:20)为流动相。检测波长268nm。结果: 丹参酮IIA在0.2μg~1.2μg范围内线性关系良好, 平均回收率为98.53%, RSD=1.08%。结论: 本法简便、快速、准确, 可作为活血通脉片的质量控制方法。

关键词: 活血通脉片; 丹参酮IIA; HPLC

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)06-0015-02

Quantitative Determination of Tanshinone II A in Huoxuetongmai Tablet by HPLC

YANG Yun-hui¹, ZHANG Cun²

(1. People's Hospital of Henan Shangcheng, Shangcheng 465350, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Abstract: Objective To develop a method for the determination of Tanshinone II A in Huoxuetongmai tablet. Methods HPLC: Kromasil C₁₈ and methanol-water(80:20) were used as the chromatographic column and the mobile phase respectively with the detected wavelength at 268nm. Results The linearity was obtained over the range of 0.2μg~1.2μg. The average recovery was 98.53% (RSD=1.08%). Conclusion The established method is simple, rapid, accurate and suitable for the quality control of Huoxuetongmai tablet.

Key words: Huoxuetongmai tablet; Tanshinone II A; HPLC

活血通脉片收载于部颁标准第四册^[1], 由鸡血藤、丹参等十几味中药组成, 具有活血通络的作用。丹参为方中主要药物之一, 其主要成分为丹参酮IIA。因此控制丹参酮IIA的含量对确保该制剂疗效有重要意义。鉴于此, 我们以丹参酮IIA为指标采用高效液相色谱法对其在该方中的含量进行了测定, 从而达到控制本品质量的目的。

1 仪器与试药

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, TVP 泵, SPD-10AV 紫外检测器, 甲醇为色谱纯, 流动相所用水为重蒸馏水, 其它试剂为分析纯。丹参酮IIA对照品(中国药品生物制品鉴定所, 供含量测定用, 批号0766-20009), 活血通脉片(洛阳中药三厂提供)。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的丹参酮IIA对照品10.4mg, 加甲醇溶液并稀释至

50ml 浓度为 $0.208\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 片除去糖衣, 精密称定, 求出平均片重, 研细, 取约 2g, 精密称定, 精密加入甲醇 50ml, 称定重量, 回流提取 1h 后, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件 色谱柱: C_{18} 柱 (Kromasil, 200mm \times 4.6mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (80: 20); 检测波长 268nm; 流速 $1.0\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温 30°C 。在此条件下, 丹参酮 IIA 保留时间为 9.25min, 分离情况良好; 以缺丹参的空白样品按同样条件提取及测定, 在丹参酮 IIA 对照品色谱峰位置, 未见干扰峰干扰, 证明本法对丹参酮 IIA 有专属性; 理论塔板数以丹参酮 IIA 峰计不低于 3000。活血通脉片色谱图见图 1。

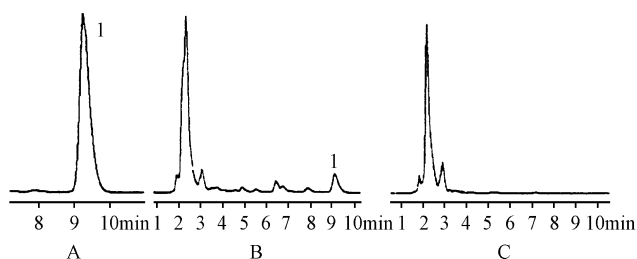


图 1 活血通脉片的 HPLC 色谱图

A-对照品色谱图; B-样品色谱图; C-空白样品色谱图; I-丹参酮 IIA

2.4 线性关系考察 精密量取丹参酮 IIA 对照品溶液 ($0.208\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) 1ml、2ml、3ml、4ml、5ml、6ml, 分别置于 10ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取各对照品溶液 10 μl , 依次注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品溶液的浓度 (X) 为横坐标, 以丹参酮 IIA 色谱峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 5.003 \times 10^7 X + 0.00956 \times 10^7$, 相关系数 $r = 0.999$ 。表明丹参酮 IIA 在 $0.2\mu\text{g} \sim 1.2\mu\text{g}$ 范围内呈一近似通过原点的直线, 故本法采用外标一点法计算含量。

2.5 稳定性考察 取丹参酮 IIA 对照品溶液, 加热回流 60min, 与未加热的对照品溶液分别以相同进样量, 按样品含量测定项下条件分析测定, 结果表明在本分析条件下, 稳定性良好, $RSD = 0.6\%$; 另取样品供试液, 隔 0.5h 进样一次, 考察 2h, $RSD = 0.7\%$ 。

2.6 精密度试验 精密吸取丹参酮 IIA 对照品溶液 10 μl 重复进样 5 次, 结果 RSD 为 0.7% , 表明精密度良好。

2.7 重现性试验 取同一批号样品供试液 5 份, 分别按样品测试条件测定, 结果 RSD 为 1.0% , 表明重

现性良好。

2.8 加样回收实验 精密称取已知含量的样品 5 份, 分别精密加入适量丹参酮 IIA 对照品, 按样品溶液制备方法操作, 测定其含量, 并计算回收率。测定结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.105	0.208	0.3084	97.79		
0.116	0.208	0.3207	98.41		
0.109	0.208	0.3120	97.60	98.53	1.08
0.274	0.104	0.3765	98.56		
0.292	0.104	0.3963	100.29		

2.9 样品的含量测定 分别取不同批号的样品, 按供试品制备方法处理, 精密吸取对照品溶液与样品溶液各 10 μl , 依次注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 并计算 3 批样品含量, 分别为: 0.0421 、 0.0429 、 0.0437mg/片 。

3 讨论

3.1 提取条件的选择 根据文献报导^[2], 丹参酮 IIA 为脂溶性成分, 易溶于氯仿、乙醇、甲醇等溶剂中, 考虑到高效液相色谱法一般采用甲醇-水溶剂为流动相^[3], 故确定以甲醇提取为宜。另外, 对超声波提取和加热回流提取方法进行了对比, 分别提取 30min、60min、90min, 按样品含量测定方法进行测定, 结果以 60min 回流提取较佳。

3.2 测定波长的选择 以流动相为溶剂, 将丹参酮 IIA 对照品配制成一定浓度的溶液, 于紫外分光光度计中进行光谱扫描, 记录光谱图, 结果丹参酮 IIA 在流动相溶剂中最大吸收波长为 267.4nm, 故本方法确定测定波长为 268nm。

3.3 本文测定方法经各项试验考察, 结果表明该方法灵敏可靠、重现性好, 可用于活血通脉片的质量控制。

参考文献:

[1] 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂(第四册). 1991. 141.
[2] 陆蕴如. 中药化学[M]. 北京: 学苑出版社, 1995. 326.
[3] 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 57.