

HPLC法测定丹葛颈舒胶囊中丹参酮 II A 的含量

曾祥林

(广西食品药品检验所, 南宁 530021)

摘要 目的: 建立 HPLC法测定丹葛颈舒胶囊中丹参酮 II A 含量的方法。方法: 采用 Luna C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-水-醋酸 (75: 25: 0.5) 为流动相, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 270 nm, 柱温为室温, 进样量 10 μL。结果: 丹参酮 II A 进样量在 0.13~0.75 μg 范围内呈良好的线性关系, $r=0.9995$ 。精密度试验 RSD 为 0.3%, 重复性试验 RSD 为 0.9%, 平均回收率为 99.85%, RSD=0.7% ($n=5$)。结论: 该方法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 丹葛颈舒胶囊; 丹参酮 II A; HPLC

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2009)07-1166-03

HPLC determination of tanshinone II A in Dangejingshu Capsule

ZENG Xiang-lin

(Guangxi Institute for Food and Drug Control Nanning 530021, China)

Abstract Objective To establish a method of HPLC determination for Dangejingshu Capsule. **Methods** Employed Luna C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Methanol-Water-Acetic acid (75: 25: 0.5) as mobile phase (a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹), 270 nm as ultraviolet detection wavelength, column temperature at room temperature and injection volume 10 μL. **Results** The calibration curve of tanshinone II A showed a good linearity within the range of 0.13-0.75 μg, $r=0.9995$. The average recovery was 99.85% and RSD was 0.7% ($n=5$). **Conclusion** The method is simple, rapid and specific with accurate and reliable results, which can be used to control the quality of products effectively.

Key words Dangejingshu capsule; tanshinone II A; HPLC

丹葛颈舒胶囊是由黄芪、党参、当归、丹参、赤芍、桃仁等 12 味中药制成的中成药复方制剂, 其功能益气活血, 舒经通络。用于瘀血阻络型颈椎病引起的眩晕、头昏、颈肌僵硬、肢体麻木等骨伤科疾病。其原质量标准中^[1]仅对个别成分作了薄层定性鉴别, 未规定含量测定指标。本品中主药丹参含丹参酮 II A 成分, 并且丹参酮 II A 是其有效成分之一, 有必要对其作质量控制。文献报道, 丹参酮 II A 的含量测定有薄层扫描法^[2]、气相色谱法^[3]和高效液相色谱法^[4]等, 以高效液相色谱法最为常见。本文采用以甲醇-水-醋酸 (75: 25: 0.5) 为流动相的 HPLC 方法测定丹葛颈舒胶囊中丹参酮 II A 的含量。操作方便, 专属性强, 可用于该品种的质量控制。

1 仪器与试药

仪器: 日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 紫外检测器; 威玛龙色谱工作站; Luna C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。

试药: 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 对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号: 110766-200416 含量测定用), 丹葛颈舒胶囊样品 10 批 (市售品)。

2 色谱条件与系统适用性

色谱条件 色谱柱为 Luna C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-醋酸 (75: 25: 0.5), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 270 nm, 进样量为 10 μL, 柱温为室温。

系统适用性试验 分别吸取供试品溶液、对照品溶液及缺丹参药材的阴性样品溶液各 10 μL, 在

上述色谱条件下, 进样, 测定。结果供试品色谱中, 丹参酮 II A 色谱峰与对照品色谱峰保留时间一致, 并与其它共存成分分离度大于 1.5 达到基线分离。缺丹参阴性样品溶液在丹参酮 II A 色谱峰相应位置上无干扰峰出现 (见图 1)。理论塔板数按丹参酮 II A 峰计算不低于 3000 的色谱柱可满足测定的要求。

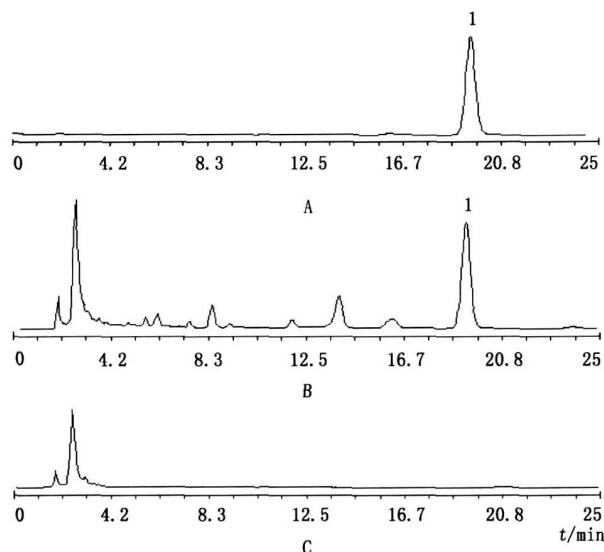


图 1 参酮 II A 对照品 (A)、供试品 (B) 和阴性溶液 (C) 色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substance of tanshinone II A (A), sample solution (B) and negative solution without tanshinone II A (C)
1 参酮 II A (tanshinone II A)

3 溶液的制备

对照品溶液的制备: 精密称取丹参酮 II A 对照品适量, 置棕色量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 取本品 10 粒 (0.3 g 每粒), 精密称定, 除去囊壳, 研细, 取相当于 1 粒量的内容物, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 超声处理 (功率: 250 W, 频率 50 kHz) 15 min 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

阴性样品溶液的制备: 按处方比例配成不含丹参的丹葛颈舒胶囊阴性样品, 照“供试品溶液的制备”项下方法, 制备阴性样品溶液。

4 线性关系考察

精密称定丹参酮 II A 对照品约 12.5 mg 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 250 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 备用。分别精密吸取上述对照品溶液 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 10 μL 测定。以对照品进样浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 回归方程为:

$$Y = 28565X - 95.3 \quad r = 0.9995$$

结果表明丹参酮 II A 进样浓度在 12.5 ~ 75 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (即进样量为 0.13~ 0.75 μg) 范围内, 进样量与丹参酮 II A 峰面积呈良好线性关系。

5 精密度试验

分别精密吸取丹参酮 II A 对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, 依次测定峰面积, 结果对照品和供试品溶液 RSD 分别为 0.3%, 0.4%。

6 稳定性试验

取同一批供试品溶液, 每隔 4 8 12 16 20 h 分别进样 10 μL , 测定峰面积, 结果 RSD% 为 0.5%, 表明供试品溶液在 20 h 内保持稳定。

7 重复性试验

取同一批号供试品共 5 份, 每份约 0.3 g 精密称定, 按样品测定项下方法进行提取, 测定, 结果测得平均值 1.3 mg 每粒, RSD% = 0.9

8 加样回收试验

取已测知含量的供试品 (含量: 1.15 mg 每粒, 0.3 g 每粒) 各 5 份, 每份约 0.15 g 精密称定, 置 25 mL 容量瓶中, 精密加入 250 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹参酮 II A 对照品溶液 2 mL, 再加甲醇适量, 按样品测定项下方法进行提取, 测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

Tab 1 The recovery of tanshinone II A in sample

样品重量 (weight) /g	样品含量 (content) /mg	加入量 (added) /mg	测得量 (detected) /mg	回收率 (recovery) /%	平均值 (average) /%	RSD /%
0.1505	0.5769	0.5000	1.080	100.6		
0.1510	0.5788	0.5000	1.075	99.23		
0.1496	0.5735	0.5000	1.069	99.21	99.85	0.73
0.1490	0.5712	0.5000	1.075	100.7		
0.1515	0.5808	0.5000	1.079	99.55		

9 样品测定

照“供试品溶液的制备”项下方法, 制备, 测定。在测定的 10 批样品中, 丹参酮 II A 含量在 1.1~ 1.3 $\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ 之间, 因此, 建议含量限度可考虑为每粒含丹参以丹参酮 II A ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$) 计, 不得少于 1.0 mg。

10 讨论

10.1 供试品提取溶剂及方法选择 经考察了 50% 甲醇、甲醇、流动相为提取溶剂, 结果表明, 采用甲醇超声处理 15 min 含量测定结果高于用 50% 甲醇及流动相超声处理, 故采用甲醇为提取溶剂。在

提取方法的选择中,分别采用回流提取,超声处理,索氏提取 3 种方法进行提取,结果采用超声提取 15 min 结果最高,且超声提取方法操作简便、省时。可能是因为回流和索氏提取温度太高及超声时间过长,破坏了丹参酮 II A 所致。

10.2 流动相组成及配比选择 曾试用甲醇-水、乙腈-水(缓冲盐)等,结果表明,选用甲醇-水-醋酸,丹参酮 II A 出峰时间适宜,峰形较好,并且与其它共存成分分离度大于 1.5。

参考文献

- 1 State official standard of Dange Jingshu capsule(丹葛劲舒胶囊国家标准). WS-10566(ZD-0566)-2002
- 2 XIE Jing-wen(谢景文), MA Hui-ping(马慧萍), LIMao-xing

(李茂星). Determination of the contents of deoxyschizandrin and tanshinone II A in Xin Gankang tablets by TLC-scanning method (薄层扫描法测定新肝康中五味子甲素和丹参酮 II A). *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报), 2000, 16(2): 69

- 3 CHEN Bing(陈斌), ZHU Mei(朱玫), XING Wang-xing(邢旺兴). Determination of tanshinone II A in salvia miltiorhiza bunge by SFE-CGC(丹参中丹参酮 II A 的 SFE-CGC 法测定). *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(1): 55
- 4 SHU Xiao-hua(舒小华), ZHOU Mei-juan(周美娟), DAI Mei-hua(戴美华). Discuss of the method in the contents of the tanshinone II A in the Huoxue Huayu tablets(活血化淤颗粒中丹参酮 II A 含量测定方法的探讨). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(4): 483

(本文于 2008 年 10 月 7 日收到)

李云龙所长会见马来西亚卫生部代表团一行

2009 年 7 月 2 日下午,中国药品生物制品检定所李云龙所长会见了马来西亚卫生部药品服务处高级主任爱莎·阿卜杜·杜曼、马来西亚国家药品监督管理局局长塞瓦拉加·斯兰甘一行。国家食品药品监督管理局国际合作处处长 建华、官员刘静参加了此次会见。双方就中检所的职能、中药及生物制品质量控制与检验检测等问题进行了会谈,并希望以此为契机,推动双方今后在相关领域中的实质性的合作与交流。随后,代表团一行还参观了我所中药室和中药标本馆。

陪同会见的有中检所副所长王军志、所长办公室主任杨昭鹏、国际合作处处长李玲、药品检验处副处长许鸣镝。



(中国药品生物制品检定所国际合作处、所长办公室供稿)