

高效液相色谱法测定心无忧片中丹参酮ⅡA的含量

龚青(浙江省药品检验所,浙江 杭州 310004)

摘要:目的 建立心无忧片中丹参酮ⅡA含量的HPLC测定方法。方法 采用C18柱(250mm×4.6mm,5 μ m),流动相为甲醇-水(73:27)。流速为1.0mL/min,检测波长为270nm。结果 线性范围:10.056~402.24 μ g($r=1.0000$)。精密度:RSD为0.89%($n=5$)。平均回收率为102.30%(RSD=1.55%, $n=6$)。结论 本法简便,快速,准确,可用于该制剂的质量控制。
关键词:心无忧片;丹参酮ⅡA;高效液相色谱法

Determination of tanshinone II A in xinwuyou tablet by HPLC

GONG Qing(Zhejiang Institute for Drug Control Hangzhou Zhejiang 310004,China)

ABSTRACT;OBJECTIVE To establish the method on determination of tanshinone II A in Xinwuyou Tablet by HPLC.
METHOD AN HPLC method was established by using a C18 column (250mm×4.6mm,5 μ m) as analytical column, methanol-water(73:27) as mobile phase. The flow rate was 1.0mL/min, and detection wavelength was at 270nm. **RESULTS** The linearity was obtained over the range of 10.056~402.24 μ g($r=1.0000$). The average recovery of method was 102.30%(RSD 1.55%). **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and can be used for the quality control of the preparation.

KEY WORDS: xinwuyou tablet; tanshinone II A HPLC

心无忧片原标准收载在《卫生部药品标准》中药成方制剂第十三册,由黄杨木、丹参、射干、细辛、川芎等味药制成。临床上具有理气活血,宽胸止痛之功效。原标准无含量测定项。丹参为方中君药,丹参酮ⅡA是其主要成分,因此选为测定指标。丹参酮ⅡA含量测定方法有:薄层扫描法^[1]、高效液相色谱法^[2]等。本实验采用HPLC法测定该片中丹参酮ⅡA的含量,方法简便,快速,准确,可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent 1100系列液相色谱仪(自动进样分析),G1314紫外检测器;丹参酮ⅡA由中国药品生物制品检定所提供,批号为0766-9909(供含量测定用);甲醇为色谱纯;水为重蒸水;心无忧片由浙江天目山药业股份有限公司提供(批号为20021201,20021202,20021203)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent extend C18(250mm×4.6mm 5 μ m);流动相:甲醇-水(73:27);流速:1.0mL/min;检测波长:270nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量10 μ L。理论板数按丹参酮ⅡA峰计算应不低于2000。

2.2 对照品溶液、供试品溶液及空白溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取五氧化二磷减压干燥24h的丹参酮ⅡA对照品适量,加甲醇制成每1mL含10 μ g的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品20片,除去薄膜衣,精密称定,研细,取粉末约1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25mL,密塞,称定重量,超声处理40min,放冷,称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.3 空白溶液 取不含丹参的阴性对照品,按“2.2.2”项下方法测定,作为空白溶液。其色谱图在丹参酮ⅡA 相应的保留时间附近无干扰,见图1。

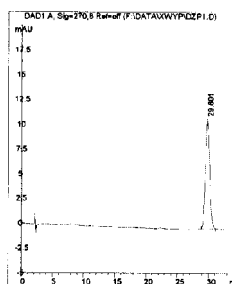


图1 丹参酮ⅡA 对照品的 HPLC 色谱图

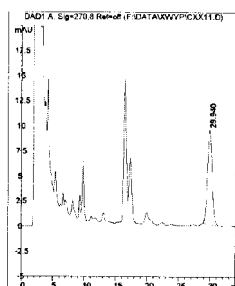


图2 心无忧片供试品的 HPLC 色谱图

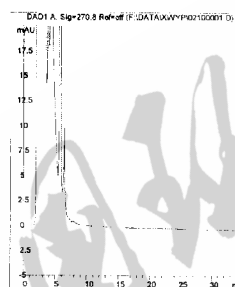


图3 缺丹参供试品的 HPLC 色谱图

2.3 测定方法

精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱峰面积,计算样品含量。

2.4 线性关系考察

精密称取经五氧化二磷减压干燥 24h 的丹参酮ⅡA 对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 10.056 μ g 的溶液,作为对照品溶液。精密吸取对照品液 1,3,5,10,20,30,40 μ L,按上述色谱条件测定峰面积,以进样量(μ L)对峰面积(A)进行线性回归,得回归方程: $Y=54.36 \times -1.47$, $r=1.0000$ 。结果表明,丹参酮ⅡA 在 10.056 ~ 402.24 μ g 范围内呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取同一供试品溶液(批号:20021202),重复进样 5 次,结果 RSD=0.89%;取同一对照品溶液,重复进样 5 次,结果 RSD=0.68%,说明进样精密度良好。

2.6 重现性考察

取同一批号样品 6 份(批号:20021202),按“2.2.2”项下方法分别进行测定,结果丹参酮ⅡA 平均含量为 0.2264mg/

g,RSD 为 1.17%($n=6$)。

2.7 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的样品(批号:20021202)适量,分别精密加入一定量的丹参酮ⅡA 对照品,按“2.2.2”项下方法测定,计算回收率,结果平均回收率为 102.02%,RSD=1.4%(见表 1)。

表 1 回收率试验

序号	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.10056	0.2132	99.37		
2	0.10056	0.2194	103.80		
3	0.10056	0.2178	103.28	102.30	1.55
4	0.10056	0.2151	102.52		
5	0.10056	0.2177	101.83		
6	0.10056	0.2191	103.01		

2.8 样品测定结果

取心无忧片样品,按“2.2.2”项下方法测定,三批样品测定结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	丹参酮ⅡA 含量(mg/片)		平均含量(mg/片)	RSD(%)
	1	2		
20021201	0.0501	0.0507	0.050	0.84
20021202	0.0542	0.0547	0.054	0.64
20021203	0.0497	0.0491	0.049	0.81

3 讨论

3.1 检测波长的选择

经 UV-260 岛津紫外分光光度仪在 190~400nm 范围内扫描,丹参酮ⅡA 在 270 \pm 2nm 处有最大吸收,故检测波长确定为 270nm。

3.2 提取条件比较

按“2.2.2”项下方法测定,考察甲醇、乙醇对含量测定的影响,结果表明,采用甲醇可以得到较高的提取得率。

3.3 提取方法的优化

按“2.2.2”项下方法测定,比较回流提取和超声提取,结果表明随着回流时间的增加,丹参酮ⅡA 的含量降低;超声提取 40,60min 所得含量结果均在误差范围内,故选择超声提取时间为 40min 为宜。

3.4 稳定性考察

取同一供试品溶液,分别在 1,6,14,27h 测定一次,结果 RSD=0.89%($n=5$),表明供试品溶液在 27h 内基本稳定。

3.5 利用 HPLC 法测定心无忧片中丹参酮ⅡA 的含量,方法简便、快速、准确,可有效该制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 王晓宏. 薄层扫描法测定中风回春胶囊中丹参酮ⅡA 含量[J] 江苏中医药,2003,5(24):45.
- [2] 中国药典. 2000 年版一部[S]. 2000:57.

收稿日期:2003-07-14