

HPLC 法测定乌兰温都苏-11 丸中丹参酮Ⅱ_A 的含量

孟 和, 朱艳红, 吴银山¹ (内蒙古通辽市药品检验所, 通辽 028000; ¹ 通辽市扎旗蒙医院)

摘要: 建立蒙成药乌兰温都苏-11 含量测定方法。采用液相色谱法测定丹参酮Ⅱ_A 的含量, 色谱柱选用 Diamonsil C₁₈, 流动相为甲醇-乙腈-水 (45: 36: 19), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 270 nm。丹参酮Ⅱ_A 的线性范围为 0.052992~0.52992 μg, $r = 0.99998$, 平均加样回收率为 100.4%, RSD = 1.2%, 该方法具有简便、快速、准确等特点, 可用于本品的质量控制。

关键词: HPLC; 乌兰温都苏-11; 丹参酮Ⅱ_A; 含量

中图分类号: R291.203; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2008) 06-0489-02

Determination of Tanshinone II_A in Wulanwendusu-11 Pills by HPLC

Meng He, Zhu Yanhong and Wu Yinshan¹ (Institute for Drug Control of Tongliao City, Inner Mongolia autonomous Region, 028000; ¹ Mongolia Hospital of Zhalute City, Inner Mongolia autonomous Region)

ABSTRACT A HPLC medicine was established for determination of Tanshinone II_A in prepared Mongolia traditional medicine Wulanwendusu-11. The separation was performed on The Diamonsil C₁₈. The mobile phase composed of Methyl alcohol-acetonitrile-water (45: 36: 19), flow rate 1.0 mL · min⁻¹, detected at 270 nm. Linear range was within 0.052992~0.52992 μg, With correlation coefficient of 0.9998. The average recovery rate was 100.4% and RSD was 1.2%. The method is simple, rapid and accurate. It can be used in the quality control of Wulanwendusu-11.

KEY WORDS HPLC; Wulanwendusu-11; Tanshinone II_A; determination

乌兰温都苏-11 味丸是由丹参、广枣等十一味药组成的复方制剂。丹参为处方中主药, 参考文献^[1-7] 本文采用高效液相色谱法对方中丹参中所含主成份丹参酮Ⅱ_A 进行检测, 建立测定方法, 本法简便、快速、准确。能控制该品种的内在质量。

1 仪器与试剂

LC-10A 液相色谱仪 SPD-M10A VP 型检测器 CLASS-VP 色谱工作站。

乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏纯水。丹参酮Ⅱ_A 对照品 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 110766-200315)。样品 (内蒙古中蒙医院, 批号: 20060310, 20060315, 20060318)。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱; 以甲醇-乙腈-水 (45: 36: 19) 为流动相; 流速:

1.0 mL · min⁻¹, 进样量: 10 μL, 柱温: 30 °C, 分离度: 3.90, 检测波长为 270 nm。理论板数按丹参酮Ⅱ_A 计算应不低于 2000。

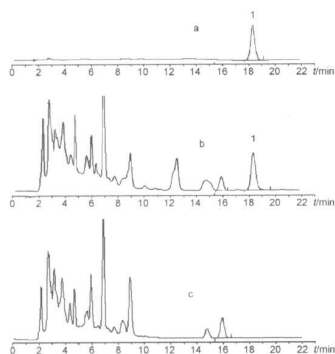
2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮Ⅱ_A 对照品 10 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀; 精密量取 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品约 1 g, 研细, 精密称定, 置具塞棕色瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 置棕色瓶中, 即得。

2.4 空白溶液的制备 按处方中药味的比例及制备方法制备不含丹参的空白制剂, 再按 2.3 项样品

溶液制备方法制备空白溶液。

2.5 空白干扰试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及空白溶液各 10 μ L, 照上述色谱条件测定, 结果空白溶液在与丹参酮 II_A 对照品相同保留时间处无色谱峰, 故认为无干扰。见图。



a 对照品; b 样品; c 阴性对照; 1 丹参酮 II_A。

图 1 乌兰温都苏 11 丸 HPLC 色谱图

2.6 线性关系考察 精密称取丹参酮 II_A 对照品 0.01104g, 置 50mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。再精密量取上述溶液 2mL 置 25mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液 (0.017664mg \cdot mL⁻¹), 精密吸取 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μ L 进样, 按上述色谱条件测定, 以峰面积 (A) 对进样量 (C) 进行回归分析, 结果丹参酮 II_A 在 0.052992~0.52992 μ g 范围内呈良好的线性关系。回归方程为:

$$A = 6.0284 \times 10^7 C - 6.5231 \times 10^3 \quad r = 0.99998$$

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液批号 (20060310), 分别于配制后 0, 2, 5, 7, 10, 12 小时进样测定, 结果 6 次进样 RSD 为 1.5%, 表明供试品溶液在 12 小时内基本稳定。

2.8 精密度试验 取同一批号 (20060310) 乌兰温都苏 11 供试品溶液连续进样 5 次, 测定丹参酮 II_A 峰面积积分值, 其 RSD 为 1.2%。

2.9 重复性试验 取同一批号 (200600310) 乌兰温都苏 11 供试品 5 份, 按 2.3 项下方法操作, 测定含量, 平均含量为 0.6239mg \cdot g⁻¹, RSD 为 1.6%, 表明本试验精密度和重现性良好。

2.10 回收率试验 加样回收法取供试品 (批号 20060310, 含量 mg \cdot g⁻¹) 6 份, 各精密量取约 0.5g, 置 25mL 量瓶中, 再分别依次精密加入浓度为 0.2208mg \cdot mL⁻¹ 丹参酮 II_A 对照品 1.4mL, 分别按含量测定项下方法操作, 测定每份含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.3208	0.3091	0.6271	99.09		
0.31194	0.3091	0.6248	101.23		
0.3202	0.3091	0.6267	99.16	100.58	1.2
0.3126	0.3091	0.6258	101.33		
0.3128	0.3091	0.6255	101.16		
0.3125	0.3091	0.6262	101.49		

2.11 样品测定结果 精密吸取供试品溶液 10 μ L, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品中丹参酮 II_A 的含量测定结果 mg \cdot g⁻¹

批号	含量	平均含量
20060310	0.6200, 0.6106	0.6153
20060315	0.6320, 0.6208	0.6264
20060318	0.6220, 0.6171	0.6196

3 讨论

取丹参酮 II_A 对照品适量, 加甲醇溶解并稀释制备对照品溶液, 照分光光度法 (《中国药典》2005 年版一部附录 VA), 在 400~200nm 范围内绘制紫外吸收光谱, 丹参酮 II_A 在 274nm 处有最大吸收峰, 故选择 274nm 作为测定吸收波长。

在用《中国药典》2005 年版一部丹参中测定丹参酮 II_A 的流动相: 甲醇水 (75:25) 测定本样品时, 发现保留时间长, 且色谱峰峰形扩散, 峰形不好, 柱效低, 不能完全分离。选用流动相甲醇-乙腈水 (45:36:19) 色谱峰不扩散, 峰形好, 柱效高, 故本法使用此流动相。

参考文献:

- [1] 宋振玉. 中草药现代研究 [M]. 第二册, 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996: 476
- [2] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 56
- [3] 徐国钧. 常用中药材品种整理和质量研究 [M]. 第一册, 福州: 福建科学技术出版社, 1994: 150
- [4] 陈德昌. 中药化学对照品工作手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 62
- [5] 林启寿. 中草药成分化学 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 188
- [6] 常新全, 丁丽霞. 中药活性成分分析手册 (上) [M]. 北京: 学苑出版社, 2002: 341
- [7] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 212