

# HPLC 法测定乌兰温都苏-11 丸中丹参酮Ⅱ<sub>A</sub> 的含量

孟 和, 朱艳红, 吴银山<sup>1</sup> (内蒙古通辽市药品检验所, 通辽 028000; <sup>1</sup> 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<sub>A</sub> 的含量, 色谱柱选用 Diamonsil C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-乙腈-水 (45: 36: 19), 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长为 270 nm。丹参酮Ⅱ<sub>A</sub> 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<sub>A</sub>; 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<sub>A</sub> in Wulanwendusu-11 Pills by HPLC

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

**ABSTRACT** A HPLC medicine was established for determination of Tanshinone II<sub>A</sub> in prepared Mongolia traditional medicine Wulanwendusu-11. The separation was performed on The Diamonsil C<sub>18</sub>. The mobile phase composed of Methyl alcohol-acetonitrile-water (45: 36: 19), flow rate 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 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<sub>A</sub>; 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<sup>[1-7]</sup> 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<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> 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 C<sub>18</sub> 柱; 以甲醇-乙腈-水 (45: 36: 19) 为流动相; 流速:

1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 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<sub>A</sub> 计算应不低于 2000。

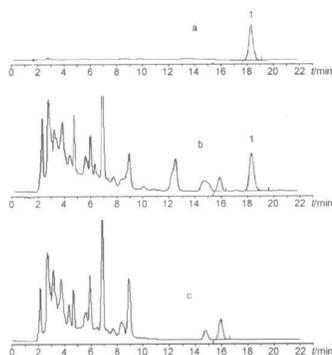
**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取丹参酮Ⅱ<sub>A</sub> 对照品 10 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀; 精密量取 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

**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 $\mu$ L, 照上述色谱条件测定, 结果空白溶液在与丹参酮 II<sub>A</sub> 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<sub>A</sub>。

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<sub>A</sub> 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<sup>-1</sup>), 精密吸取 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30 $\mu$ 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<sub>A</sub> 在 0.052992~0.52992 $\mu$ 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<sub>A</sub> 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<sup>-1</sup>, 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<sup>-1</sup>) 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<sup>-1</sup> 丹参酮 II<sub>A</sub> 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 $\mu$ 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<sub>A</sub> 的含量测定结果 mg $\cdot$ g<sup>-1</sup>

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<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> 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