

HPLC同时测定丹参酮含片中隐丹参酮和丹参酮II A含量

薛克昌, 史宁, 谭生建, 迟家平, 姜莉, 吴久鸿(中国人民解放军第306医院药学部, 北京100101)

摘要 目的: 建立 HPLC 同时测定丹参酮含片中隐丹参酮和丹参酮II A 含量的方法。方法: 采用分析色谱柱, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈, 4.6 × 150 mm, 5 μm)。流动相: 乙腈-水(55: 45), 流速: 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm。结果: 隐丹参酮和丹参酮II A 的回归方程分别为: $Y = 0.0002709X + 0.001090$ 和 $Y = 0.0002556X + 0.001055$, r 均为 0.999 9, 线性范围分别是 0.036 00~1.440 μg 和 0.030 00~1.200 μg, 平均回收率和 RSD 分别为 101.7%、0.28% 和 100.8%、0.5%。结论: 本方法操作简便, 测定结果准确。

关键词 HPLC; 丹参酮含片; 隐丹参酮; 丹参酮II A

中图分类号: R927 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)02-0143-03

Determination of cryptotanshinone and tanshinone II A in Danshentong buccal tablets by HPLC

XUE Kechang SHI Ning TAN Shengjian CHI Jiaping JIANG Li WU Jiuhong (Department of Pharmacy, 306th Hospital of PLA, Beijing 100101, China)

ABSTRACT **Objective** To develop a HPLC quantitative method for the determination of cryptotanshinone and tanshinone II A in Danshentong buccal tablets. **Methods** The chromatographic conditions include column C₁₈ (Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈, 4.6 × 150 mm, 5 μm), mobile phase acetonitrile-water (55: 45), flow rate 1.0 mL/min and detection wavelength 327 nm. **Results** The regression equation of cryptotanshinone and tanshinone II A was $Y = 0.0002709X + 0.001090$, $r = 0.9999$, $Y = 0.0002556X + 0.001055$, $r = 0.9999$. The linear range was 0.036 00~1.440 μg and 0.030 00~1.200 μg. The average recovery of cryptotanshinone and tanshinone II A were 101.7% (RSD 0.28%), 100.8% (RSD 0.50%) respectively. **Conclusion** The method was sensitive, rapid and accurate.

KEY WORDS HPLC; Danshentong buccal tablets; cryptotanshinone; tanshinone II A

丹参酮含片是我院研究的临床新制剂, 由丹参提取物和辅料(蔗糖、甘露醇、薄荷脑、糊精等)加工制成, 主治咽炎。丹参及其制剂的含量测定报道主要有高效液相色谱法^[1, 2]等, 丹参酮含片的含量测定方法未见报道。本文研究建立了高效液相色谱法同时测定丹参酮含片中隐丹参酮和丹参酮II A含量的方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Agilent 1200系列): 含G1311A四元色谱泵、G1329A自动进样器、G1315B二极管阵列检测器、G2170BA色谱工作站、G1316A柱温箱和G1379B在线脱气机。隐丹参酮和丹参酮II A对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为0852-9601和0766-200010)。丹

参酮含片由本院制剂室制备。乙腈(DMA TECHNOLOGY INC., LOT 61201)色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试验用溶液制备 分别取隐丹参酮和丹参酮II A对照品36 mg和30 mg, 精密称定, 置100 mL量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为隐丹参酮和丹参酮II A对照品混合溶液; 每1 mL分别含隐丹参酮和丹参酮II A 36 μg和30 μg。

按照本品处方和制法, 分别制备不含丹参提取物的空白片剂, 作为丹参酮含片的阴性样品, 取该样品10片, 称重, 研细, 取1片量, 置100 mL量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为阴性供试品溶液。取丹参酮含片10片, 称重, 研细, 取1片量, 同法, 制备丹参酮含片的供试品溶液。

2.2 系统适用性试验

2.2.1 理论板数和分离度 分析色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈, 4.6 × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (55:45), 检测波长: 254 nm, 流速: 1 mL/min。在此色谱条件下, 分别取阴性供试品溶液、对照品混合溶液和丹参酮含片供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱

仪, 记录色谱图, 结果见图 1。图 1 显示, 丹参酮含片中的其他成分对隐丹参酮和丹参酮 II A 的测定没有干扰。在图 1 中, 隐丹参酮和丹参酮 II A 的保留时间分别约为 14.8 min 和 30.2 min, 理论板数分别约为 5 000 和 6 000, 与相邻峰的分度均大于 1.5。

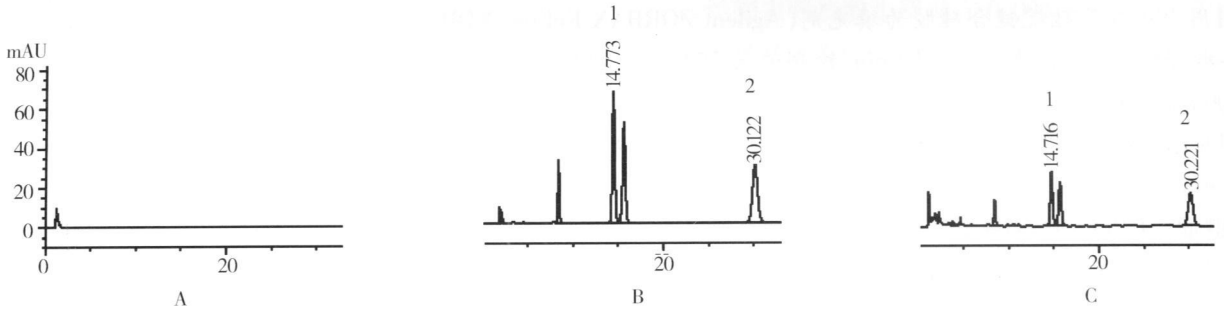


图 1 对照品和样品高效液相色谱图

A-阴性; B-对照品; C-样品; 1-隐丹参酮; 2-丹参酮 II A

2.2.2 对照品溶液进样重复性 取隐丹参酮和丹参酮 II A 对照品混合溶液重复进样 5 次, 记录色谱峰面积, *RSD* 分别为 0.19% 和 0.38%。

2.3 样品测定重复性 按样品测定方法, 制备 6 个同一浓度的供试品溶液, 分别测定含量, 隐丹参酮和丹参酮 II A 含量的 *RSD* 分别为 0.14% 和 0.16%。

2.4 线性关系考察 分别取对照品混合溶液 1, 2, 6, 10, 20, 30, 40 μL, 进样, 记录色谱峰面积, 以进样量对峰面积线性回归, 得隐丹参酮和丹参酮 II A 回归方程分别为: $Y = 0.0002709X + 0.001090$, $r = 0.9999$ 和 $Y = 0.0002556X + 0.001055$, $r = 0.9999$, 线性范围分别为: 0.036 00 ~ 1.440 μg 和 0.030 00 ~ 1.200 μg。

2.5 定量限 取隐丹参酮和丹参酮 II A 对照品溶液稀释至峰高约为基线噪音的 10 倍, 测得隐丹参酮和丹参酮 II A 的定量限均小于 0.005 0 μg。

2.6 加样回收率 精密量取丹参酮含片的供试品溶液 (批号 070117) 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入对照品混合溶液 (每 1 mL 含隐丹参酮和丹参酮 II A 分别为 36.00 μg 和 30.00 μg) 5 mL, 摇匀 (即: 加入隐丹参酮和丹参酮 II A 分别为 180.0 μg 和 150 μg), 作为加样回收样品。同法制备 6 个同一浓度的加样回收样品, 测定 6 次。另精密量取丹参酮含片的供试品溶液 (批号 070117) 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入乙醇 5 mL, 摇匀, 作为空白样品。将各样品溶液置自动进样器中, 分别取 10 μL 进样测定, 计算回收率, 测定结果见表 1 和表 2。

2.8 耐用性

2.8.1 供试品溶液稳定性 配制供试品溶液, 6 h 内重复进样测定 5 次, 隐丹参酮和丹参酮 II A 含量的 *RSD* 均不大于 1.0%, 显示供试品溶液至少在 6 h 内稳定。

表 1 隐丹参酮加样回收率测定结果 ($n = 6$)

编号	空白量 (μg)	加入量 (μg)	测得总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)
1	146.2	180.0	328.3	101.2		
2	146.2	180.0	329.6	101.9		
3	146.2	180.0	329.7	102.0	101.7	0.28
4	146.2	180.0	329.4	101.8		
5	146.2	180.0	329.4	101.8		
6	146.2	180.0	329.0	101.6		

表 2 丹参酮 II A 加样回收率测定结果 ($n = 6$)

编号	空白量 (μg)	加入量 (μg)	测得总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)
1	169.5	150.0	320.1	100.4		
2	169.5	150.0	320.2	100.4		
3	169.5	150.0	320.5	100.7	100.8	0.50
4	169.5	150.0	322.1	101.8		
5	169.5	150.0	321.0	101.0		
6	169.5	150.0	320.7	100.8		

2.8.2 流动相的组成比例 在研究分析的过程中可以看出, 有机相和水相的比例有小的变动, 对测定结果的准确性没有明显影响, 但是对丹参酮 II A 的保留时间影响较明显。

2.9 样品测定 按照以上方法测定了三批样品, 结果见表 3。

表 3 丹参酮含片中隐丹参酮和丹参酮 II A 含量测定结果 (n= 6)

批号	隐丹参酮 (mg/片)	丹参酮 II A (mg/片)
070117	2.949	3.364
061201	2.873	4.200
061202	2.329	3.833

3 讨论

3.1 经 200~ 365 nm 范围扫描, 确认隐丹参酮和丹参酮 II A 均在 200~ 290 nm 波长处有吸收, 隐丹参酮最大吸收波长在 262 nm, 丹参酮 II A 最大吸收波长在 270 nm。根据 2 种成分光谱和丹参酮含片 HPLC 在线三维光谱扫描综合分析, 为保证各成分都具有适宜

的灵敏度和精密度, 选用 2 种成分均有较强吸收且有吸收曲线较平坦处的 254 nm 作为测定波长。

3.2 本法操作简便, 测定结果准确, 可用于丹参酮含片中隐丹参酮和丹参酮 II A 含量测定。

参考文献:

- [1] 谭生建, 王文明, 刘刚, 等. HPLC 法测定丹参酮滴耳液中二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II A 含量 [J]. 解放军药学学报, 2003, 19(4): 269
- [2] 吴燕红, 黄鸣清, 李卓明, 等. HPLC 测定冠心病七味片中丹参酮 II A、丹参酮 I、隐丹参酮和对甲氧基桂皮醛乙酯含量 [J]. 中成药, 2006, 28(4): 492

收稿日期: 2007-02-08

血清丙戊酸、卡马西平血清样品的稳定性考察

周亮, 王明媚, 马建丽 (中国人民解放军总医院第一附属医院药剂药理科 北京 100037)

摘要 目的: 考察丙戊酸、卡马西平血清样品保存条件对血清药物浓度的影响。方法: 取癫痫患者血清样品, 在取血当天、冰箱冷藏 (5℃ ± 1℃) 保存 7 d 常温 (23℃ ± 2℃) 保存 7 d 与 14 d 后, 用荧光偏振免疫法测定血清丙戊酸、卡马西平浓度并进行比较, 考察其稳定性。结果: 室温保存 7 d、14 d 或冷藏保存 7 d 的血样测定结果与取血当天测定结果比较无统计学差异。结论: 丙戊酸、卡马西平血清样品在室温下可稳定保存 14 d。

关键词 卡马西平; 血药浓度; 稳定性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)02-0145-03

Study on stability of valproic acid and carbamazepine concentrations in serum samples

ZHOU Liang¹, WANG Mingmei, MA Jianli (1. Department of Pharmacy & Pharmacology, First Hospital Affiliated to PLA General Hospital Beijing 100037, China)

ABSTRACT Objective To investigate the effects on serum drug concentrations of valproic acid and carbamazepine with different storage requirements of serum sample. **Methods** Methods The serum samples from epileptic patients were stored at normal temperature (23℃ ± 2℃) for 7 days and 14 days or in refrigerator (5℃ ± 1℃) for 7 days. Then these samples were determined by FPIA and the results were compared with the new ones. **Results** Compared with the new samples, the samples which were stored for 7 or 14 days were no significant differences. **Conclusion** Serum samples of valproic acid and carbamazepine can be stored stably at normal temperature for 14 days.

KEY WORDS valproic acid; carbamazepine; serum drug concentration; stability

癫痫是一种慢性发作性神经症状, 其发作具有突发性、短暂性和反复性三个特点, 发病率约 0.5%, 我国约有 600 万患者^[1]。治疗癫痫需要服用抗癫痫药控制发作, 提高患者的生活质量。由于此类药物在患者体

内代谢个体差异大, 安全范围小, 服用周期长, 临床医生仅凭经验给药, 往往难以达到理想的治疗效果。因此血药浓度监测成为药物治疗癫痫的必要措施。我院从 2002 年开始采用荧光偏振免疫法 (fluorescence polarization immunoassay, FPIA) 测定血清丙戊酸、卡马西平浓度, 为临床制定个体化给药方案提供可靠的依据。

作者简介: 周亮 (1969-), 女, 主管药师。Tel (010) 66867349, 13371669888, E-mail zhoul1969@yahoo.com.cn