

· 药物分析 ·

复方汉防己颗粒中丹参酮 IIA 的成分鉴别和含量测定

张淑瑜 (济南军区总医院药剂科, 山东 济南 250031)

[摘要] 目的 建立复方汉防己颗粒中丹参酮 IIA 的成分鉴别和含量测定方法。方法 采用薄层色谱法对丹参酮 IIA 进行定性鉴别;采用高效液相色谱法对其进行含量测定。结果 薄层鉴别斑点清晰,阴性对照无干扰;含量测定结果表明丹参酮 IIA 进样量在 5.28 ~ 52.8 μg/ml 范围内线性关系良好($r=0.9999$),平均加样回收率为 97.97%,RSD 为 0.34% ($n=9$)。结论 本法操作简便、专属性强、重现性好,可用于复方汉防己颗粒中丹参酮 IIA 的质量控制。

[关键词] 复方汉防己颗粒;丹参酮 IIA;薄层色谱法;高效液相色谱法

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)03-0228-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.03.020

Identification and determination of tanshinone IIA in Compound Granule Tetrandra

ZHANG Shu-yu (Department of Pharmacy, Jinan Military General Hospital, Jinan, 250031, China)

[Abstract] **Objective** To develop a method for identification and determination of tanshinone IIA in Compound Granule Tetrandra. **Methods** TLC method was used to identify tanshinone IIA, HPLC method was used to determine the content. **Results** The spot was clear in TLC identification without interference of negative control. The sample size of tanshinone IIA had a good linear relationship with peak area ($r=0.9999$), when ranged from 5.28 ~ 52.8 μg/ml, the average recovery rate was 97.97%, RSD was 0.34% ($n=9$). **Conclusion** The method was simple, with good specificity and reproducibility, which could be used as the quality control method for this preparation.

[Key words] Compound Granule tetrandra; Tanshinone IIA; TLC; HPLC

复方汉防己颗粒为我院自制制剂,由汉防己、丹参、黄芪等 8 味中药粉碎后经 85% 乙醇提取制得。该药具有软坚散结、活血化淤、改善肝脏血液循环的作用,对于急慢性肝炎、脂肪肝等具有很好的临床效果^[1,2]。笔者在前期已对方中主药防己进行了深入研究,依据该药方解表明丹参与防己合用方能起到共奏疏肝利胆、补而不峻、疏而不激之效^[3]。该药经醇提后丹参所含脂溶性成分丹参酮 IIA 不仅含量较高,而且是其最重要的药理活性物质之一,现代药理研究表明其具有降低血清总胆固醇以及使动脉粥样斑块形成面积明显减少之功效^[4]。笔者通过采用薄层色谱法和高效液相色谱法对制剂中丹参酮 IIA 进行定性和定量检测,从而完善对方汉防己颗粒的质量标准研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 BS223S 型电子分析天平、BS124S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), AS3120 型超声波清洗仪(天津奥特赛思有限公

司),UV-2550 型紫外分光光度检测仪(日本岛津), Agilent-1200 高效相色谱仪(美国安捷伦,四元泵、DAD 检测器、自动进样器)。

1.2 试剂 复方汉防己颗粒(批号 20110412、20110521、20111120,济南军区总医院药剂科制剂室),丹参酮 IIA 对照品(批号 110766-200416,供含量测定用,中国药品生物制品检定所),甲醇为一级色谱纯,水为二次反渗透纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别^[5,6]

2.1 供试品溶液的制备 精密称取复方汉防己颗粒 0.500 g,研细,加乙醚 10 ml,超声处理(功率 120 W,40 kHz)30 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯 2 ml 溶解即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 IIA 对照品适量,加乙醚制成 0.5 mg/ml 的对照品溶液。

2.3 阴性溶液的制备 按工艺处方比例和制法去除丹参药材后制成颗粒,再按供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

2.4 操作与结果^[1] 薄层板:硅胶 G 薄层板;点样量:各 5 μl;展开剂:石油醚(60℃~90℃)-乙酸乙

[作者简介] 张淑瑜(1977-),女,博士,副主任药师。Tel: (0531) 51666862, E-mail: zhangshuyu77@163.com.

酯(4:1)。结果显示薄层色谱中,在与对照品斑点相应的位置上显相同颜色供试品斑点,阴性对照无干扰。见图1。

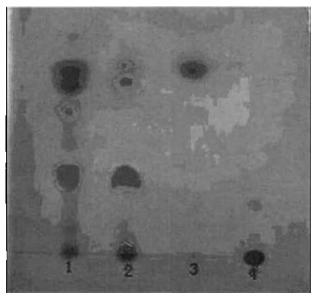


图1 复方汉防己颗粒薄层色谱图

1-丹参对照药材;2-供试品;3-丹参酮IIA对照品;4-阴性对照

3 含量测定

3.1 检测波长的选择 以甲醇为溶剂配制浓度为0.01 mg/ml的丹参酮IIA对照品溶液,在紫外光200~400 nm范围内进行扫描,图谱显示在波长270 nm处有最大吸收,因此确定270 nm为含量测定检测波长。见图2。

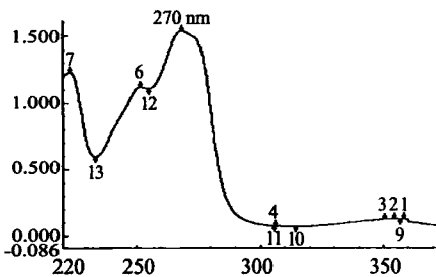


图2 丹参酮IIA紫外扫描图谱

3.2 色谱条件与系统适用性实验^[7-10]

3.2.1 色谱条件 Zorbax SB C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(80:20);流速:1.2 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:270 nm;进样量:20 μl。以外峰面积法计算含量,理论板数按丹参酮IIA峰计算不低于2 000。

3.2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮IIA对照品适量,加甲醇制得浓度为13.2 μg/ml的对照品溶液。

3.2.3 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下的供试品研细,精确称取供试品细粉0.508 g,置25 ml棕色量瓶中,加适量甲醇溶解,超声处理(功率120 W,40 kHz)30 min,放冷,补足至刻度,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

3.3 测定法 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各20 μl,注入液相色谱仪,测定。

3.4 方法学考察

3.4.1 线性范围考察 分别精密量取上述对照品溶液0.4、1.0、2.0、3.0、4.0 ml置10 ml棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度。按上述色谱条件,分别进样量20 μl测定峰面积,以丹参酮IIA进样浓度(μg/ml)为横坐标(C),峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程: $Y = 6\,469.3C - 3.339$, $r = 0.999\,9$ ($n = 5$),结果表明丹参酮IIA在5.28~52.8 μg/ml范围内线性关系良好。

3.4.2 精密度的试验 精密量取丹参酮IIA对照品溶液20 μl注入液相色谱仪,连续进样5次,计算其平均峰面积RSD为0.56% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

3.4.3 稳定性试验 精密称取同一供试品溶液,分别在0、1、2、4、8 h后按上述色谱条件测定峰面积,丹参酮IIA的RSD为0.92%,表明供试品溶液在8 h内基本稳定。

3.4.4 重复性试验 精密称取同一批样品(20111120)5份,制成供试品溶液连续进样5次,分别记录峰面积积分值,结果计算含量平均值为0.429 6 mg/g, RSD为0.46% ($n = 5$)。

3.4.5 专属性试验 精密称取按处方比例中除丹参以外其余药材制得的供试品0.514 g,按“3.2.3”项下供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液,按含量测定方法进行测定,结果阴性对照溶液在与对照品相应位置上无吸收峰出现,表明其他组分对测定无干扰。见图3。

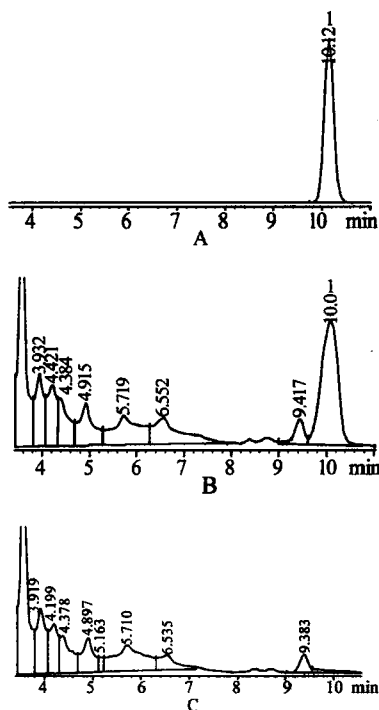


图3 复方汉防己颗粒高效液相色谱图

A-丹参酮IIA对照品溶液;B-供试品溶液;
C-阴性对照溶液;1-丹参酮IIA

3.4.6 加样回收率试验 精密称取9份已知含量

供试品(丹参酮 IIA 含量为 0.427 2 mg/g) 0.500 g, 分别按高、中、低 3 个比例加入丹参酮 IIA 对照品适量,按 3.2.3 项下方法制得供试品溶液,进行含量测定,计算平均回收率和 RSD。结果见表 1。

表 1 复方汉防己颗粒中丹参酮 IIA 的加样回收率试验结果 (n=9)

成分	含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
丹参酮 IIA	213.6	150.1	358.1	98.46	97.97	0.34
	214.0	151.4	356.1	97.45		
	213.6	153.9	359.8	97.90		
	214.5	200.4	407.3	98.17		
	213.6	201.6	406.2	97.83		
	213.6	202.5	405.8	97.52		
	214.0	250.3	456.1	98.23		
	213.6	253.8	458.6	98.12		
	214.0	252.6	457.4	98.03		

3.4.7 样品测定 按本色谱条件对照品溶液和供试品溶液各进样 20 μl,依法测定 3 批供试品中丹参酮 IIA 的含量。结果见表 2。

表 2 复方汉防己颗粒中丹参酮 IIA 含量测定结果 (n=5)

批号	含量 (mg/g)	RSD (%)	平均含量 (mg/g)
20110412	0.427 2	0.43	0.426 3
20110521	0.422 5	0.41	
20111120	0.429 6	0.46	

4 讨论

4.1 薄层鉴别操作中应避光 2010 版《中国药典》丹参项下丹参酮 IIA 薄层检测中采用乙酸乙酯作为溶剂,但由于丹参酮 IIA 对光、热十分敏感,实际操作时在乙酸乙酯中极易氧化分解,影响薄层检测结

果,因此尝试用乙醚作溶剂并用棕色具塞瓶溶解丹参酮 IIA 对照品,结果显示用乙醚溶解点样后薄层斑点更清晰且无干扰。

4.2 含量测定中溶剂的选择和流动相的比例 笔者分别通过对甲醇、75% 甲醇、85% 乙醇、乙醚等不同溶剂提取的供试品进行含量测定,结果表明用甲醇提取的供试品中丹参酮 IIA 色谱峰峰形及分离度最佳。另外试验中将 2010 版《中国药典》丹参项下的色谱流动相:甲醇-水比例由 75:25 调整为 80:20,操作中既能较快出峰又不影响目标色谱峰峰形及有效分离,可节省检测时间。

【参考文献】

- [1] 中国药典一部[S]. 2010:70.
- [2] 林恒标,林恒宽. 丹参酮 IIA 的稳定性研究[J]. 中医研究, 2005, 18(8):16.
- [3] 侯家玉,方泰惠. 中药药理学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:149.
- [4] 陈磊,陆茵,郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应[J]. 中草药, 2009, 40(3):476.
- [5] 巴哈尔古丽,徐新. 对乌鸡白凤丸中丹参酮 IIA、芍药苷薄层色谱方法的改进建议[J]. 中国药事, 2006, 20(6):369.
- [6] 汤淮波,李顺祥,谢昭明. 通淋颗粒质量标准的研究[J]. 中医药导报, 2005, 11(4):64.
- [7] 曾振兴,杨非,冯伟红. HPLC 测定市售丹参饮片丹参酮 IIA[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 87.
- [8] 陈雅萍. HPLC 测定肝爽颗粒中丹参酮 IIA 的含量[J]. 海峡药学, 2011, 23(7): 90.
- [9] 伍丕娥,易秋艳,韦浩. HPLC 测定心元胶囊中大黄素与丹参酮 IIA 的含量[J]. 华西药学杂志, 2000, 15(2): 107.
- [10] 段秀俊,裴妙荣,段晓军. HPLC 法测定强脉胶囊中丹参酮 IIA 的含量[J]. 中药制剂工程与技术, 2010, 11(1): 23.

[收稿日期] 2012-09-04

[修回日期] 2012-11-02

(上接第 203 页)

【参考文献】

- [1] 李玉琪,李玉莲,张克锦,等. 赤土茯苓苷的分离和结构鉴定[J]. 解放军药学报, 1999, 5(1): 42.
- [2] 李玉琪,周承明,张克锦,等. 赤土茯苓苷对异丙肾上腺素诱发的小鼠心肌缺血的保护作用[J]. 中草药, 1996, 27(7): 418.
- [3] 邵春红,新华,周承明,等. 赤土茯苓苷对大鼠心肌缺血的保护作用[J]. 新疆医科大学学报, 2000, 23(3): 205.
- [4] 新华·那比,艾尼瓦尔,周承明,等. 赤土茯苓苷对离体大鼠心脏缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 西北药学杂志, 2000, 15(3): 110.
- [5] 李玉莲,李玉琪,曾平,等. 高效毛细管电泳测定赤土茯苓中的赤土茯苓苷[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(9): 747.
- [6] 李玉琪,李玉莲,张文敏,等. 高效毛细管电泳法鉴别土茯苓及其混伪品[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(8): 469.
- [7] 李玉莲,李玉琪,曾平,等. 土茯苓植物资源调查[J]. 中草药, 2002, 33(9): 850.
- [8] 李玉琪,余自成,邓昌国,等. 胶束电动毛细管电泳法测定兔血浆落新妇苷浓度及其药代动力学研究[J]. 解放军药学报, 2003, 29(1): 26.
- [9] 李玉琪,余自成,李玉莲,等. 落新妇苷在小鼠体内的药代动力学研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(10): 2478.
- [10] 丁岩,新华·那比,帕尔哈提,等. 赤土茯苓苷对不完全脑缺血小鼠的保护作用[J]. 中国新药杂志, 2000, 9(4): 238.
- [11] 丁岩,帕尔哈提·克里木,新华,等. 赤土茯苓苷对小鼠海马 CA 区神经元的缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 新疆医科大学学报, 2000, 23(2): 98.
- [12] 王文艳,全瑶瑶,张林琪. HPLC-MS/MS 法鉴定落新妇苷在大鼠尿中的代谢产物[J]. 质谱学报, 2011, 32(1): 36.

[收稿日期] 2012-10-16

[修回日期] 2012-12-28