

HPLC 测定远视复明丸中丹参酮 II_A 的含量

倪春生, 邓满梅, 李 康, 赵荣辉

(1 湖南中医学院第一附属医院, 湖南 长沙 410007; 2 长沙九芝堂制药股份有限公司, 湖南 长沙 410007)

摘要: 目的: 建立测定远视复明丸中丹参酮 II_A 含量的高效液相色谱方法。方法: 以 Inertsil ODS-2 为色谱柱, 水-甲醇(15:85)为流动相, 检测波长 270nm, 流速为 1.0ml/min, 柱温为 35℃。结果: 丹参酮 II_A 在 0.0021~3.15μg 线性关系良好, $r=0.9997$, 平均回收率 98.5% ($n=5$), $RSD=1.3\%$ 。结论: 本法操作简单, 结果准确, 重复性好, 可用于远视复明丸的质量控制。

关键词: 远视复明丸; 丹参酮 II_A; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2004)04-0020-02

远视复明丸是我院自制制剂, 由柴胡、当归、丹参、白芍、丹皮等多味药组成, 具有疏肝补肾、养血活血、益阴明目的作用。用于青少年远视、弱视, 疗效显著。为了控制该制剂的质量, 本文采用 HPLC 法对成品中丹参酮 II_A 进行含量测定, 可作为本制剂的定量方法。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪: 日本岛津 LC-10ATVP 泵(双泵); SIL-10ADVP 自动进样器; SPD-10AVP 紫外检测器; CLASS-VPN5.02 工作站; CTO-10ASVP 柱温箱。

甲醇(色谱纯); 水(去离子水); 远视复明丸(湖南中医学院第一附属医院制剂室提供, 批号: 20021018; 20021211; 20030116); 对照品丹参酮 II_A (中国药品生物制品检定所, 批号 0766-9707)。

2 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-2(4.6×250mm, 5μm); 流动相: 水-甲醇(15:85); 柱温 35℃; 检测波长: 270nm; 流量: 1ml/min(A 泵 0.15ml, B 泵 0.85ml); 进样量 5μl。

3 方法与结果

3.1 系统适应性实验 分别取对照品溶液, 供试品溶液, 阴性对照品溶液各 5μl, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件记录色谱图, 理论塔板数按丹参酮 II_A 峰面积计算不低于 3000。丹参酮 II_A 的保留时间约为 10min, 阴性对照液图谱在丹参酮 II_A 峰位置处无假阳性峰, 丹参酮 II_A 与其它组可完全分离。见图 1。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II_A 对照

品 2.09mg, 加甲醇制成 0.0209mg/ml 的对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备 将样品粉碎, 取 1g, 精密称定, 加甲醇 25ml, 称定重量, 超声提取 30min, 称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 用 0.45μm 微孔膜过滤后, 得供试品溶液。

3.4 线性关系考察 分别吸取上述对照品溶液 0.1, 1, 10, 100, 130, 150μl, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以丹参酮 II_A 量为横坐标(X), 峰面积积分值为纵坐标(Y), 回归方程为 $Y=35145+3119990X$, $r=0.9997$, 表明丹参酮 II_A 在 0.0021~3.15μg 范围呈良好线性关系。

3.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液 5μl 重复进样 5 次, 按上述色谱条件测定丹参酮 II_A 峰面积积分值, RSD 为 1.3%。

3.6 回收率试验 采用加样回收法, 取已知丹参酮 II_A 含量样品(批号 20021018)5 份, 另取丹参酮 II_A 对照品适量加甲醇溶解并配制成 0.0209mg/ml 的溶液, 按不同量加入上述样品中, 分别进样测定, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.195	0.0550	0.249	98.2		
0.200	0.0825	0.281	98.2		
0.192	0.138	0.328	98.6	98.5	1.3
0.192	0.165	0.358	100.6		
0.185	0.206	0.385	97.1		

3.7 稳定性试验 取样品(批号 20021018), 依上法制成供试品溶液, 放置 2.4.6.8.24h 后, 按上述色谱

条件, 测定含量 (mg/g) 分别为 0.193, 0.195, 0.191, 0.197, 0.192, RSD 为 1.5%。

3.8 重复性试验 精密称取样品(批号 20021211) 5 份, 按上述方法制成供试品溶液, 分别进样测定, 测定含量 (mg/g) 分别为 0.195, 0.195, 0.200, 0.198, 0.198, $RSD=1.1\%$ 。

3.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μ l, 注入高效液相色谱中测定, 结果见表 2。

4 讨论

加热回流提取与超声提取对丹参酮 II_A 含量影响的可能因素: 丹参酮 II_A 对热稳定性下降^[1], 加热回流提取 1h^[2] 的丹参酮 II_A 含量(0.182mg/g) 比超声

提取 30min(0.198mg/g) 的要低($n=5$)。

表 2 样品测定结果($n=3$)

样品批号	丹参酮 II _A 含量(mg/g)	RSD (%)
20021018	0.195	1.1
20021211	0.202	0.9
20030116	0.197	1.0

参考文献:

- [1] 杜志谦, 冯坤, 刘月桂, 等. 丹参中丹参酮 II_A 受热含量降低的规律研究[J]. 中草药, 2002, 33(10): 892~893.
- [2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 247~257.