

HPLC 法测定肌瘤化消颗粒中淫羊藿苷和丹参酮 II_A

李 春

天津市和平区劝业场社区卫生服务中心, 天津 300020

摘 要: 目的 建立测定肌瘤化消颗粒中淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的 HPLC 法。方法 采用高效液相色谱法, Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水, 梯度洗脱; 检测波长为 270 nm; 柱温为 40 ℃; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。结果 淫羊藿苷在 7.5~50 μg、丹参酮 II_A 在 3~20 μg 与峰面积的线性良好 ($r=0.999\ 9$)。平均回收率分别为 100.2%、100.1%, RSD 值分别为 0.9%、1.3% ($n=9$)。结论 本法操作简便, 重现性好, 可有效控制肌瘤化消颗粒的质量。

关键词: 肌瘤化消颗粒; 淫羊藿苷; 丹参酮 II_A; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)07-742-03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.07.010

Determination of icariin and tanshinone II_A in Jiliu Huaxiao Granules by HPLC

LI Chun

Tianjin Heping District Quanyechang Street Community Health Service Center, Tianjin300020, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of icariin and tanshinone II_A in Jiliu Huaxiao Granules. **Methods** HPLC was carried out on a Diamonsil™ C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with acetonitrile - water as mobile phase for gradient elution. The detection wavelength was set at 270 nm. The injection volume was 10 μL at the flow rate of 1.0 mL/min. The temperature of column was set at 40 ℃. **Results** There was good linear relationship of icariin and tanshinone II_A in the range of 7.5 — 50 μg ($r = 0.999\ 9$) and 3 — 20 μg ($r = 0.999\ 9$), and the average recoveries were 100.2% and 100.1% with RSD values of 0.9% and 1.3%, respectively. **Conclusion** The method is simple to operate and reproducible, which can control the quality of Jiliu Huaxiao Granules effectively.

Key words: Jiliu Huaxiao Granules; icariin; tanshinone II_A; HPLC

肌瘤化消颗粒是天津市红桥区中医院的制剂品种, 由山豆根、丹参、淫羊藿、赤芍、桂枝等 17 味中药组成, 具有行气化郁、通络散结的作用, 用于治疗子宫肌瘤、卵巢囊肿、子宫内膜异位症。淫羊藿苷和丹参酮 II_A 分别为处方中丹参和淫羊藿的主要药理活性成分之一, 现代研究表明淫羊藿苷具有明显的拟激素样作用^[1-2], 丹参酮 II_A 具有抑菌、抗炎作用^[3-4]。为有效地控制该制剂质量, 本实验建立了同时测定淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的方法, 结果该方法操作简便、可行、重现性好, 可以有效控制肌瘤化消颗粒的质量。

1 仪器与试药

日本岛津 LC—2010AHT 高效液相色谱仪, LC

solution 工作站; 赛多利斯 BP211D 电子天平; 岛津 UV2450 型紫外-可见分光光度计。

丹参酮 II_A (批号 110766-200619)、淫羊藿苷 (批号 110737-200415) 对照品均由中国食品药品检定研究院提供。甲醇、乙腈 (色谱级); 水为纯化水。

肌瘤化消颗粒由天津市红桥区中医院提供, 规格 10 g/袋, 批号分别为 20130622、20130623、20130626; 阴性样品药材购于河北美威中药材有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[5-6]

Diamonsil™ C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水, 梯度洗脱, 见表 1; 检

收稿日期: 2014-04-08

作者简介: 李 春 (1966—), 女, 主管药师, 在劝业场社区卫生服务中心药房主持工作。Tel: (022) 27115965 E-mail: lmxing1964@sina.com

测波长为 270 nm; 柱温为 40 ℃; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于 1 500。

表 1 梯度洗脱系统
Table 1 Gradient elution system

<i>t</i> /min	乙腈/%	水/%
0~12	20	80
12~15	20→40	80→60
15~22	40→80	60→20
22~37	80	20

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别称取淫羊藿苷和丹参酮 II_A 对照品适量, 精密称定, 加甲醇分别制成含淫羊藿苷 25 μg/mL 和丹参酮 II_A 10 μg/mL 混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取肌瘤化消颗粒, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取除丹参和淫羊藿外的阴性样品约 1 g, 按供试品溶液的制备操作, 制得阴性样品溶液。

2.3 专属性试验

取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 10 μL, 进样测定, 结果见图 1。

2.4 标准曲线的制备

精密吸取混合对照品溶液 3、5、10、15、20 μL 注入液相色谱仪, 测定各自峰面积。以进样质量为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 计算回归方程。淫羊藿苷: $Y=14\,016.2X+812.3$, $r=0.999\,9$; 丹参酮 II_A: $Y=43\,955.6X+364.5$, $r=0.999\,9$ 。结果表明淫羊藿苷在 7.5~50 μg、丹参酮 II_A 在 3~20 μg 与峰面积的线性良好。

2.5 精密度试验

取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 分别测定淫羊藿苷和丹参酮 II_A 峰面积, 计算得其峰面积的 RSD 值分别为 0.51%、0.43%。

2.6 重复性试验

取批号 20130622 肌瘤化消颗粒样品, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 共取 6 份, 制备供试品溶液, 进样分析, 测定每份样品中淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的

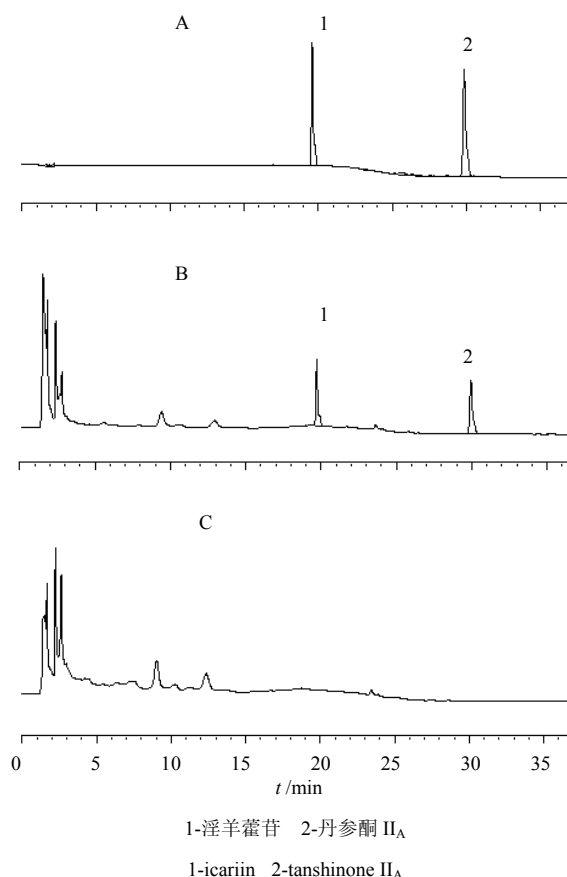


图 1 混合对照品(A)、肌瘤化消颗粒(B)和阴性样品(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixture reference substance (A), Jiliu Huaxiao Granules (B) and negative sample (C)

质量分数, 结果其 RSD 值分别为 0.6%、0.8%。

2.7 稳定性试验

取批号 20130622 肌瘤化消颗粒样品, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 进样分析, 测定样品中淫羊藿苷和丹参酮 II_A 峰面积, 结果其 RSD 值分别为 0.66%、0.71%, 说明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

取淫羊藿苷对照品和丹参酮 II_A 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含淫羊藿苷 0.1 mg/mL、丹参酮 II_A 0.05 mg/mL 混合对照品溶液。取批号 20130622 肌瘤化消颗粒样品约 0.5 g, 共 9 份, 精密称定, 分别精密加入上述混合对照品溶液 2.0、2.5、3.0 mL 各 3 份, 制备供试品溶液, 进样分析, 计算回收率, 结果淫羊藿苷平均回收率为 100.2%, RSD 值为 0.9%; 丹参酮 II_A 平均回收率为 100.1%, RSD

值为 1.3%。

2.9 样品测定

取 3 个批号的肌瘤化消颗粒样品, 制备供试品溶液, 每批各平行制备 2 份, 按外标法分别计算淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的平均质量分数, 结果见表 2。

表 2 肌瘤化消颗粒中淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的测定结果
Table 2 Determination of icariin and tanshinone II_A in Jiliu Huaxiao Granules

批 号	淫羊藿苷		丹参酮 II _A	
	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	RSD/%	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	RSD/%
20130622	0.596	0.9	0.273	0.6
20130623	0.631	1.2	0.261	0.9
20130626	0.622	1.1	0.301	1.3

3 讨论

3.1 检测波长的选择

经紫外光谱扫描, 结合《中国药典》2010 年版一部相关记载, 淫羊藿苷和丹参酮 II_A 均在 270 nm 波长处有最大吸收, 故将 270 nm 定为检测波长。

3.2 流动相的选择^[7-8]

选择流动相时, 分别比较了乙腈-水不同比例的流动相系统, 但因二者极性相差较大, 使用等度洗脱, 造成主成分无法洗脱或分离度达不到要求, 经试验采用梯度洗脱, 各个组分可以洗脱下来, 主

成分与相邻杂质峰能够分离完全。

3.3 提取方法和提取溶剂的考察

分别采取不同比例的甲醇作为提取溶剂, 当使用含水甲醇提取时, 丹参酮 II_A 提取不完全, 故将甲醇作为提取溶剂。试验中还分别测试了超声提取和加热回流提取, 结果显示, 加热回流提取时的测定结果较高, 故将加热回流定为该制剂的提取方法。

参考文献

- [1] 曾庆岳, 王云山. 淫羊藿药理作用研究进展 [J]. 医药导报, 2012, 31(4): 462-465.
- [2] 王 洁, 陈 花, 买迪娜, 等. 淫羊藿苷和淫羊藿素对乳腺癌 T47D 细胞增殖的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(11): 1470-1475.
- [3] 高兆锦, 韩国林. 丹参酮药理作用及其成分含量分析 [J]. 中国卫生产业, 2013(7): 66.
- [4] 李红艳, 刘艳杰, 王 倩, 等. 具有酪氨酸酶抑制活性的丹参有效成分筛选研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(2): 85-89.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 80, 205.
- [6] 赵明宏, 韩镌竹, 王常丽, 等. 高效液相色谱法同时测定复方仙灵脾颗粒中淫羊藿苷和丹参酮 II_A 的含量 [J]. 解放军药学学报, 2011, 27(1): 63-65.
- [7] 侯 凯, 殷建忠, 安建伟, 等. HPLC 法测定冠心七味滴丸中丹参酮 II_A 的测定 [J]. 北方药学, 2006, 3(3): 10-12.
- [8] 杨立芳, 宋文耆. 高效液相色谱法测定抗骨增生丸中淫羊藿苷的含量 [J]. 中国药房, 2006, 17(18): 1420-1421.