

HPLC 法测定离体透皮接受液中丹参酮 II_A 的浓度[△]

第一军医大学珠江医院中医科(广州 510282) 钟 伟* 王 鹏 邹恒琴

摘 要 建立了测定离体透皮接受液中丹参酮 II_A 的 HPLC 测定法。流动相: 甲醇-水(85:15); 紫外检测波长 254 nm, 流速 1 mL/min。实验表明在 230~2 300 ng/mL 浓度范围内, 丹参酮 II_A 的浓度与峰高的线性关系良好, $r=0.9984$ 。皮肤渗透液中的丹参酮 II_A 的平均回收率为 101.62%, 日内、日间 RSD 分别为 4.45% 及 4.23%。该法简便, 分离完全, 结果可靠, 适用于丹参酮 II_A 的离体透皮液浓度的测定。

关键词 丹参酮 II_A 渗透液浓度 HPLC

丹参酮 II_A (tanshinone II_A, Tan II_A) 是丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的脂溶性成分之一, 具有抗心肌缺血作用。近年来, 有人用以丹参为主的活血化瘀中药制成透皮制剂治疗冠心病, 取得了较好的疗效。但由于丹参的化学成分结构复杂、成分较多, 有关其透皮特点的基础研究比较困难, 为此我们从单一成分入手, 选择 Tan II_A 作为定量研究其透皮特点的有效成分, 建立了检测离体透皮吸收量的 HPLC 法。

1 仪器、样品与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪; 紫外可见检测器 SPD-6AV; 柱恒温箱 CTD-6A; C-R4A Chromatopac 数据处理仪; 色谱柱: Nucleosil TC 18(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 20 μL 进样器(澳大利亚); Valia-Chien 双室扩散池(上海医科大学药剂教研室定做)。

Tan II_A 对照品由广东药学院提供, Tan II_A 样品: 由广州市医药工业研究所用 CO₂ 超临界流体萃取技术从紫丹参中萃取所得。所用试剂为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液: 精密称取 Tan II_A 对照品

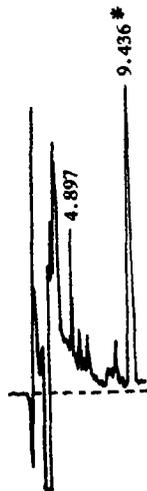
2.3 mg 放入 100 mL 量瓶中, 用少量乙醇溶

解后加 5% PEG 600 至刻度成为 23 μg/mL 的 Tan II_A 对照品溶液。

2.2 分析测定方法

2.2.1 色谱条件: 流动相为甲醇-水(85:15), 流速: 1.00 mL/min, 检测波长 254 nm, 灵敏度 0.01 AUFS, 纸速 2 mm/min。

在上述色谱条件下测得的 Tan II_A 对照品色谱图见图 1。



* 为 Tan II_A, 余为杂质峰
图 1 Tan II_A 对照品色谱图

2.2.2 标准曲线的制备: 取 10 mL 量瓶 10 支, 分别加入 Tan II_A 对照品溶液 0.1~1.0 mL, 然后加入 5% PEG 600 至刻度, 使其终浓度分别为 230、460、690、920、1 150、1 380、1 610、1 840、2 070、2 300 ng/mL。各进样 15 μL, 对照品色谱峰的峰高(H)与浓度(C)在 230~2 300 ng/mL 范围内呈良好的线性关系, 回归方程: $C = 72.1739 + 0.4788H$, $r = 0.9984$, $P < 0.01$ 。

2.2.3 回收率试验: 在 5% PEG 600 的皮肤渗透接受液样品(浓度为 575、1 265、1 955 ng/mL)中精密加入一定量

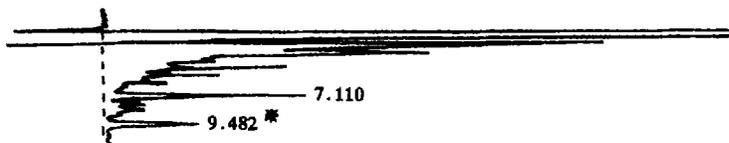
* Address: Zhong Wei, Zhujiang Hospital of First Military Medical University, Guangzhou

钟 伟 女, 第一军医大学珠江医院中医科副主任医师、副教授。1984 年 7 月毕业于第一军医大学军医系并留校任教, 1988 年 9 月考入上海中医学院攻读硕士学位研究生, 1991 年 7 月毕业获医学硕士学位, 其后一直在珠江医院中医科从事中西医结合内科的医、教、研工作, 主要从事中西医结合心血管的临床与实验研究工作。

△ 国家自然科学基金资助课题 批准号 39400180

的 Tan II_A 对照品,按上述方法测定 Tan II_A 浓度,结果回收率为 101.62%(n=3)。

2.2.4 精密度试验:将上述 3 种浓度的 Tan II_A 对照品皮肤渗液样品按标准曲线项下方法测定对照品峰高,同日内测定日内误差,连续 3 d 测定日间误差,结果日内 RSD=4.45%,日间 RSD=4.23%(n=3)。



* 为 Tan II_A, 余为杂质峰

图 2 渗透接受液中 Tan II_A 样品色谱图

药材中 Tan II_A 含量的做法^[3],但在流动相中所用甲醇浓度有所不同,当流动相为 85% 的甲醇时,在 Tan II_A 对照品色谱图中,其保留时间为 9 min,在 Tan II_A 经皮渗透液样品的色谱图中其保留时间同样为 9 min,与在此之前出现的杂质峰得到了基线分离。整个操作过程简单,保留时间短,分离完全,结果可靠。目前用于中药离体透皮实验的方法已有许多,高玉升等用 UV 三阶导数和 HPLC

2.2.5 样品测定:脱毛并去除皮下脂肪的 SD 大鼠腹部皮肤置于 Valia-Chien 双室扩散池中,以 5%PEG 600 为 Tan II_A 经皮渗透的接受液,在预定时间内从接受液中取样 15 μL,按上述方法测定 Tan II_A 峰高,见图 2。

3 讨论

本文参考了以往用 HPLC 法测定丹参

法测定了丹参酮 I 的透皮吸收率^[4],但用 HPLC 法测定 Tan II_A 的离体透皮量尚未见报道。本文用该法进行 Tan II_A 的离体透皮研究初获成功,值得进一步加以推广应用。

参考文献

- 1 贝自强,等. 中医杂志,1985,26(8):32
- 2 蔡文元. 江苏中医杂志,1986,7(12):7
- 3 王慕邹,等. 药物分析杂志,1985,5(6):348
- 4 高玉升,等. 中草药,1992,23(9):465

(1998-03-08 收稿)

Determination of Tanshinone II_A *in vitro* Permeability Concentration by HPLC

Zhong Wei, Wang Peng and Zou Hengqin (Zhujiang Hospital of the First Military Medical University, Guangzhou, 510282)

Abstract HPLC method was established for the determination of Tanshinone II_A (Tan II_A) concentration in the Valia-Chien diffusion cell. The mobile phase consisted of methanol : water (85 : 15). The detected wave length was 254 nm and flow rate was 1 ml/min. The assay linearity was determined over the range of 230-2300 ng/ml in 5% PEG 600 permeability solution (r=0.9984). The mean recovery of Tan II_A was 101.62%. The within day and day to day variations were 4.45% and 4.23% respectively which were both less than 10%. The method is simple, rapid, and reliable. It is suitable for the determination of Tan II_A concentration.

Key words Tanshinone II_A *in vitro* permeability concentration HPLC

邮 购 书 讯

《百病中医民间疗法》20元;《50种皮肤、外科病最新中医治疗》21元;《常见病简易中医疗法》10元;《中医处方指南》19元;《50种男性病的中医治疗与保健》19元;《中医生手册》43元;《中医病证治疗常规》53元;《中医急诊学》15元;《针灸推拿学》48元;《消化系统病》25元;《肛肠疾病的诊疗》16元;《肝胆疾病的中西医结合治疗方药荟萃》26元;《中西医结合骨科临床手册》27元;《中西医结合治疗皮肤病、性病》36元;《中西医结合治疗外科病》25元;《男女不孕育诊治汇萃》26元;《妇科病中西医结合治疗》25元;《前列腺疾病的诊断与治疗》36元;《实用临床新药手册》28元;《治疗药物中毒与防治》26元;《急救(西医)》55元。以上书为各出版社正式出版,书价已含邮费,需者到邮局汇款,在汇单附言栏内写清所购书名称、数量,不必另写信。我社还有未刊出的其他医书,需者请电话咨询。汇款地址:长沙市伍家岭国庆新村利民信息书社 孙胜老师收 邮编:410008 咨询电话:0731-4495110 本广告长年有效