

测定熊胆中结合型的胆汁酸^[7]。

3.3 本法首次在常规条件下一性分离 9种结合及游离型胆汁酸,仅基线在改变洗脱溶剂比例时会抬高,但总的来说并不影响其定量的可靠性。

References

- [1] Muraca M, Ghos Y. Glyco- α -dihydroxy- β -cholic acid as internal standard for high-pressure liquid chromatographic analysis of conjugated bile acids [J]. *J Lipid Res*, 1985, 26: 1009-1011.
- [2] Ghos Y, Rutgeerts P, Vantrappen G. Tauro- α , 12 α -dihydroxy- β -cholic acid as internal standard in the gas-liquid chromatographic analysis of bile acid methyl ester acetates [J]. *J Lipid Res*, 1983, 24: 1376-1379.
- [3] Zeng W G, Tian S J, Tu G S. Analysis of bile acids by HPLC

- [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1989, 9(5): 284.
- [4] Hofmann A. Thin-layer adsorption chromatography of free and conjugated bile acids on silic acid [J]. *J Lipid Res*, 1962, 3: 127-128.
- [5] Nakayama F, Nakagaki M. Quantitative determination of bile acids in bile with reverse-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1980, 183: 287-291.
- [6] Reid A D, Baker P R. High performance liquid chromatography of bile acids with a reversed-phase radial compression column [J]. *J Chromatogr*, 1982, 247: 149-156.
- [7] Zhang Q M, Yuan H N. Determination of conjugated bile acids in *Fel Ursi* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1993, 13(5): 321-323.
- [8] Patrick P H, Elliott W H. Analysis of bile acids secreted by high-performance liquid chromatography with a microbore column [J]. *J Chromatogr*, 1985, 347: 155-162.

RP-HPLC法测定芪参胶囊中丹参酮II_A的含量

李 钦^{1,2}, 韩 光^{1,2}, 许启太¹, 贾 天柱², 程铁峰^{1*}

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475001; 2. 辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

芪参胶囊主要由黄芪、丹参、人参、茯苓、三七、玄参、水蛭等组成,具有益气活血、化瘀止痛功效,用于冠心病稳定型心绞痛证属气虚血瘀者。丹参为主要君药,主要成分为丹参酮II_A、隐丹参酮、丹参素、原儿茶醛等,其中丹参酮II_A为主要活性成分。丹参酮II_A的测定方法有高效液相色谱法^[1~3]、超临界流体萃取联用毛细管气相色谱法^[4]等。芪参胶囊质量标准中采用薄层扫描法测定丹参酮II_A的含量。为了提高其标准,本实验采用 HPLC法测定丹参酮II_A的含量,结果符合有关规定,可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10A液相色谱仪, CR-3A记录仪, SPD-10AV 检测器, SIL-10A自动进样器。

丹参酮II_A对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 0766-9909,供含量测定用),甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水。芪参胶囊由新谊医药集团生产,规格: 0.5 g 粒,批号: 20031012、20031015、20031018。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS(150 mm $\times$ 6.0 mm); 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 流动相: 甲醇-乙腈-水(35: 40: 25); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长:

270 nm。在上述色谱条件下,丹参酮II_A峰的保留时间约为 18.6 min,与共存的其他成分分离良好,以丹参酮II_A峰计算色谱柱的理论板数为 6 263。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取丹参酮II_A对照品适量,加甲醇溶解,制成每 4 μ g/mL 的溶液,置棕色量瓶中备用。

2.3 供试品溶液制备: 取本品装量差异项下内容物,研细,精密称取 3 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称重,超声处理(功率 250 W,频率 33 kHz) 20 min,取出,放冷,称重,补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,溶液置棕色瓶中备用。

2.4 空白试验: 按处方比例及工艺自制不含丹参的阴性样品,按供试品溶液的制备方法处理,进样。结果处方中其他药材和辅料不干扰测定,见图 1。

2.5 线性关系的考察: 精密称取丹参酮II_A对照品 10.50 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 1 mL 置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成 0.004 2 μ g/mL 的溶液。分别精密吸取 3、5、7、9、11 μ L 溶液进样,测定色谱峰面积。以进样量为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归得回归方程: $Y = 1\,022\,773.81X - 8\,525.15$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明丹参酮II_A在

* 收稿日期: 2004-03-27

作者简介: 李 钦(1965-),男,河南中牟人,博士研究生,副教授,研究方向为中药质量标准及炮制工艺。

Tel (0378) 5956970 E-mail liqin@henu.edu.cn

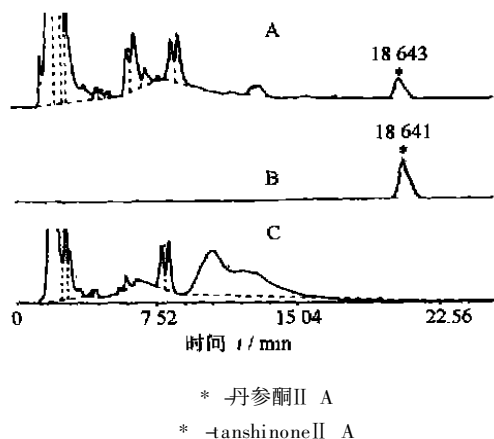


图 1 芪参胶囊(A)、丹参酮II_A对照品(B)和阴性溶液(C)的 HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of Qishen Capsule (A), tanshinone II_A (B), and negative solution (C)

0.012 6~ 0.046 2 μ g 与峰面积线性关系良好。

2.6 精密度试验: 取供试品溶液 5 μ L, 在上述色谱条件下连续进样 6 次, 分别测定丹参酮II_A 峰面积, 结果 RSD= 1.52%。

2.7 重现性试验: 取同一批号 (20031005) 样品 5 份, 分别研细, 精密称取粉末 3 g, 精密称定, 分别依法进行测定, 测得丹参酮II_A 的质量分数为 0.045 mg/g, RSD= 2.46%。

2.8 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 配制后置棕色瓶中, 分别在 0 2 4 6 8 h 进样测定峰面积, 结果丹参酮II_A 峰面积的 RSD 为 1.06%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.9 回收率试验考察: 取同一批号 (20031005) 样品, 内容物 5 份, 研细, 取粉末 3 g, 精密称定, 精密加入丹参酮II_A 对照品溶液 (0.011 7 mg/mL) 10.0 mL, 按样品含量测定项下方法操作, 测定, 结果平均回收率为 96.8%, RSD= 1.53% ($n=5$)。

2.10 样品测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试

品溶液各 5 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算, 结果 3 批样品 (批号: 20031005 20031008 20031011) 中丹参酮II_A 质量分数分别为 0.23 0.31 0.38 mg/粒 ($n=3$)。

3 讨论

3.1 流动相的选择: 考察了甲醇-水、甲醇-乙腈-水系统, 结果表明以甲醇-乙腈-水 (35: 40: 25) 为流动相时, 丹参酮II_A 的分离效果及峰形最好。

3.2 检测波长的选择: 取丹参酮II_A 对照品的甲醇溶液在 200~ 400 nm 波长测定紫外吸收光谱, 结果丹参酮II_A 在 268.4 223.0 nm 波长处有最大吸收, 其中 268.4 nm 处的吸收系数较大, 参考有关文献^[5], 故选择 270 nm 为检测波长。

3.3 提取溶剂的选择: 根据丹参酮II_A 的化学性质, 实验中以乙醇和甲醇为溶媒, 丹参酮II_A 的提取量为指标加以考察, 结果两种溶媒提取效率基本相同。鉴于乙醇提取液中其他组份较多, 易污染色谱柱, 故选用甲醇为提取溶剂。

3.4 超声时间的考察: 对超声处理制备供试品溶液进行了考察。结果显示, 超声提取 20 min 和 30 min 时丹参酮II_A 的提取率相近。为保证提取完全, 确立超声处理时间为 30 min。

References

- [1] Xiao X F. Determination of tanshinone II_A in Ganzhikang Granule [J]. *J Tianjin Coll Tradit Chin Med* (天津中医学院学报), 2002, 21(2): 34.
- [2] Liang X Y, Hou A G, Qian Z G, et al. Study on determination of tanshinone II_A by HPLC [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2000, 23 (Suppl): 20.
- [3] Chen B, Zhu M, Xing W X, et al. Quantitative determination of tanshinone II_A in *Salvia miltiorrhiza* Bge. by SFE-CGC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(1): 55-57.
- [4] He H. Determination of cryptotanshinone and tanshinone II_A in Xiaoyankun by HPLC [J]. *Chin J Tradit Vet Sci* (中兽医杂志), 2003, (5): 37.
- [5] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2000.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本, 包括: 1974~1975年, 1976年, 1979年, 1985~ 1994年 (80元/年); 1995~ 1997年 (110元/年), 1998年 (120元), 1999年 (135元), 2000年 (180元), 2001年 (200元); 2002年 (200元); 1996年增刊 (50元), 1997年增刊 (45元), 1998年增刊 (55元), 1999年增刊 (70元), 2000年增刊 (70元), 2001年增刊 (70元), 2002年增刊 (65元), 2003年增刊 (65元), 2004年增刊 (65元) 欢迎订购, 电话: (022) 27474913; (022) 23006821(传真)。