

高效液相色谱法测定利腹丸中丹参酮Ⅱ_A

苏淑文, 陈欣瑜, 黎宇君

(广州中一药业有限公司, 广东 广州 510000)

利腹丸由丹参、白芍、陈皮等组成, 具有行气止痛等功效, 用于治疗肚痛、食滞腹痛、胃气痛、月经痛、肝郁胁痛。方中丹参含有丹参酮Ⅱ_A等成分, 具有活血通经、祛瘀止痛、清心除烦, 局部应用有明显的抗炎作用, 是本品的有效成分之一。因此本实验制订利腹丸中丹参酮Ⅱ_A的测定方法, 以有效地控制该产品的质量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters alliance 2695 分离单元; Waters 2487 双波长紫外检测器; Empower 色谱工作站; Millipore 纯水处理器。

甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。丹参酮Ⅱ_A对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号 110766-200416, 供定量测定用, 利腹丸为本公司试制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1,2]: 十八烷基硅烷键合硅胶柱; 流动

相: 甲醇-水 (75 : 25); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35 ℃; 检测波长: 270 nm; 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 称取丹参酮Ⅱ_A对照品适量, 加甲醇制成 16 μg/mL 的溶液, 置棕色量瓶中, 即得。

2.3 供试品溶液的制备^[1,2]: 取利腹丸粉末 (过 3 号筛) 3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 取出放冷, 再称定质量, 用甲醇补充减失的质量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4 干扰试验考察: 按处方及工艺制备缺丹参的阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。取丹参酮Ⅱ_A对照品、利腹丸和阴性对照溶液进样, 结果在丹参酮Ⅱ_A的相应位置上未出现色谱峰, 说明阴性对照无干扰。见图 1。

2.5 线性关系考察: 精密称取丹参酮Ⅱ_A对照品适

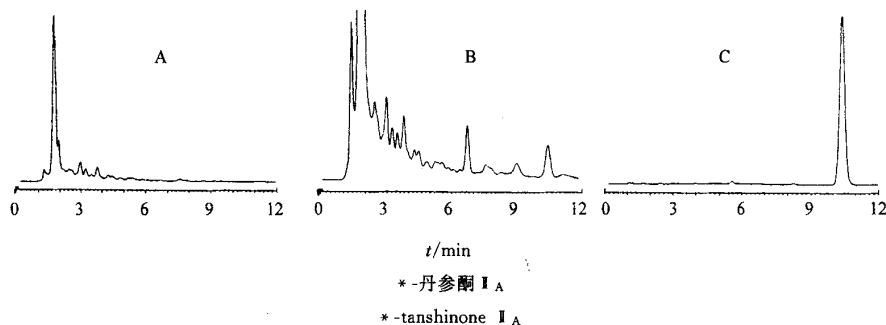


图 1 阴性对照(A)、利腹丸(B)和丹参酮Ⅱ_A对照品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of negative sample (A), Lifu Pills (B), and tanshinone II_A reference substance (C)

量, 加甲醇制成 20、40、60、100 μg/mL 的溶液, 进样测定, 记录色谱图。以丹参酮Ⅱ_A的质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 56\,100 X - 48\,400$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明丹参酮Ⅱ_A进样量在 20~100 μg 与峰面积的线性关系良好。

2.6 精密度试验: 精密吸取丹参酮Ⅱ_A对照品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱图, 连续进样 6 次, 测定

峰面积, 结果 RSD 为 0.13%。

2.7 稳定性试验: 取供试品溶液分别于 0、2、4、6、8、10、24 h 依法进样, 测定丹参酮Ⅱ_A峰面积。表明供试品溶液 8 h 内稳定性良好, 丹参酮Ⅱ_A峰面积的 RSD 为 0.88% ($n=5$)。

2.8 重现性试验: 取批号为 J00263 的利腹丸样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算, 结果丹参酮Ⅱ_A的平均质量分数为 0.258 mg/g, RSD 为

0.28%。

2.9 加样回收率试验:精密称取批号 J00263 的利腹丸约 3.0 g,平行操作 6 份,精密加入 0.2 mg/mL 丹参酮Ⅱ_A对照品 4 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得回收率为 100.1%,RSD 为 0.35%。

2.10 样品测定:取本品共 5 批,每批平行 2 份,制备供试品溶液,进样测定,记录峰面积,按外标法计算,结果见表 1。

3 讨论

供试品溶液的制备时,考察了加热回流,超声 30、45 min 处理,结果表明,超声处理和加热回流提取所得的丹参酮Ⅱ_A的量相近,但超声处理所得供

表 1 利腹丸中丹参酮Ⅱ_A的测定结果

Table 1 Determination of tanshinoneⅡ_A in Lifu Pills

批 号	丹参酮Ⅱ _A /(mg·g ⁻¹)
J00263	0.258
J00501	0.251
JF0320	0.249
JF0325	0.254
JF0451	0.253

试品溶液不稳定,故实验选用加热回流提取制备供试品溶液。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Zhang H, Zhu J G. Quality standard of Huoxuejiangu Capsules [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2004, 26(10): 815.

丹参中丹酚酸 B 的提取工艺研究

张 昀,刘 路,李 钦

(河南大学药学院,河南 开封 475001)

丹参水溶性有效成分多具有酚酸性结构,主要由丹参素,丹酚酸 A、B、C、D、E 等含酚羟基的化合物构成,其中丹酚酸 B 的量最高,为 3 个分子丹参素与 1 个分子咖啡酸缩合而成,是丹参发挥疗效作用的主要物质之一。目前研究较多的有总丹酚酸(total salvianolic acid)、丹酚酸 A(salvianolic acid A)和丹酚酸 B(salvianolic acid B)^[1]。本实验针对丹酚酸 B 对热的不稳定性,本实验比较了水提法、超声提取法和闪式破碎提取法处理丹参样品,为进一步优化丹酚酸 B 的提取条件提供参考。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC—2010A 高效液相色谱仪,KQ—300VDE 超声提取器(昆山市超声仪器有限公司),JHBE—50A 闪式提取器(北京金鼎科技发展有限公司),RE—52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇、乙腈为色谱纯,乙醇、甲酸为分析纯,实验用水为超纯水,丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111562-200504);丹参药材购于开封市医药药材采购供应站天济药店,经河南大学中药教研室鉴定为唇形科植物丹参 *Saliva miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎。

2 方法与结果

2.1 丹酚酸 B 的 HPLC 法测定^[2]

2.1.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59);检测波长:286 nm;体积流量:1 mL/min;进样量:10 μL。

2.1.2 样品的测定:取提取液干粉,精密称取 0.2 g,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并加至刻度,进样测定,计算。

2.2 水提法的考察^[3]

2.2.1 影响水提法的因素水平的选择:选择加水量(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)和提取次数(D) 4 个因素,见表 1。

表 1 水提法的因素水平

Table 1 Factors and levels of water extracting method

水平	因 素			
	A/倍	B/h	C/h	D/次
1	6	0	0.5	1
2	8	3	1	2
3	10	6	1.5	3

2.2.2 水提法的结果及分析:取丹参粗粉 25 g,精密称定,按 L₉(3⁴) 正交试验表条件操作,煎煮后加 75%乙醇,滤过,合并滤液,减压浓缩至干,测定,以丹酚酸 B 的量为指标,筛选丹参水提工艺条件,结果见表 2。可知因素 A 对丹酚酸 B 的提取影响较大,其次为因素 C、D,结合生产实际,故拟定最佳提取条件为

收稿日期:2006-10-16

作者简介:张 昀(1978—),女,河南开封人,讲师,河南大学药学院中药学研究生,主要从事中药新药开发与质量标准研究。

E-mail:zhangyun@henu.edu.cn