

丹参中丹参酮 II_A 的 SFE-CGC 法测定陈斌^{1*}, 朱梅², 邢旺兴¹, 刘荔荔¹, 吴玉田¹

(1. 第二军医大学药学院; 2. 第二军医大学基础医学部, 上海 200433)

摘要: 目的 用超临界流体萃取法(SFE)联用毛细管气相色谱法(CGC)测定丹参药材中丹参酮 II_A 的含量。方法 用溶解度参数理论预测丹参酮 II_A 的溶解压力,再用正交设计法考察温度、改性剂量和动态萃取体积三因素对 SFE 萃取效率的影响。结果 SFE-CGC 法测定丹参药材中丹参酮 II_A 简便快速,结果准确可靠,加样回收率为 95.3%,RSD=4.3%, $n=3$ 。结论 利用 SFE-CGC 法测定丹参药材中丹参酮 II_A,可提高分析速度,且使用有机溶剂少,对环境造成的污染小,与超声提取法比较,经 t 检验,显著优于超声提取法。

关键词: 超临界流体萃取; 丹参酮 II_A; 丹参; 毛细管气相色谱法

中图分类号: R927.2; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2001)01-0055-03

丹参酮类为丹参中有效成分,有较强的抗菌作用,1995 版中国药典^[1]以丹参酮 II_A 为定量指标用高效液相色谱法进行质量控制,此外还有用固相萃取-分光光度法^[2]、薄层-荧光法^[3]和高效液相法^[4]测定丹参中丹参酮 II_A 的含量。本文首次采用 SFE-CGC 法测定丹参药材中丹参酮 II_A 的含量。

液) 50,100,200,400,600 和 800 μL 分别置 10 mL 量瓶中,各加地西洋内标溶液 100 μL ,并用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,进行气相色谱分析。以峰面积比(Y)对含量(X)作回归计算,得回归方程: $Y = 14.38X - 0.1266$, $r = 0.9996$,线性范围为 2.69 - 43.04 ng。

材 料 与 方 法

结 果 与 讨 论

仪器药品 DX100 注射泵, SFX 2-10 萃取器(美国 ISCO 公司),气相色谱仪为 HP-5890 Series II, FID 检测器, 25 m \times 0.32 mm \times 0.52 μm , HP-5 柱(crosslinked 5% Ph Me silicone)。丹参药材由上海长海医院提供,由本院生药教研室乔传卓教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的根,丹参酮 II_A(纯度为 99.2%)和地西洋(99.5%)购自中国药品生物制品检定所,其他试剂均为分析纯。

分析测定色谱条件及标准液和样品制备 色谱条件: 气化温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 柱温 270 $^{\circ}\text{C}$, 载气 N_2 , 柱头压 60 kPa, 分流比 50:1, 以 0.40 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 地西洋溶液为内标, 进样量 1 μL 。取丹参酮 II_A 标准溶液(5.38 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 乙酸乙酯溶

1 萃取条件

在压力、温度、动态萃取体积和静态萃取时间都固定的条件下,分别用氯仿、丙酮、甲醇和乙酸乙酯各 100 μL 萃取,结果以丙酮为改性剂所得结果最佳,确定以丙酮为改性剂。

由溶解度参数理论^[5,6]计算出丹参酮 II_A 的 $\delta_2 = 10.53$, 对照相应的压力表,压力应大于 35.5 MPa,因此选择压力 40.0 MPa。作者在以往多次实验通过正交设计的方差分析和均匀设计的多元回归分析^[7,8],得出结论:在 5 个影响超临界流体萃取因素中,静态萃取时间影响最小。因此舍弃了静态萃取时间这一因素,为了使流体与丹参酮之间的作用充分,静态萃取时间全用 10 min。剩下 3 个因素为温度、改性剂量和动态萃取体积,因此可以采用三因素三水平的正交设计法,温度 A(50/60/70 $^{\circ}\text{C}$)、改性剂量 B(50/100/150 μL)和动态萃取体积 C(4/8/12 mL)。从正交设计结果可以确定萃取条件为:温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 改性剂量 150 μL , 动态萃取体积 8 mL。从趋势上看,随着改性剂量的加大,峰面积比有增大的可

收稿日期: 2000-06-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39770904)

作者简介: 陈斌,男,讲师,博士研究生。

* Tel: (021) 25070350, E-mail: chenbin-sh@hotmail.com

能性,因此又补做一点,萃取条件在压力 40 MPa,温度 60 °C,动态萃取体积 10 mL,静态萃取时间 10 min,而改性剂量为 200 μ L,其他条件完全相同,结果所得峰面积比为 1.60,与我们所选条件所得的 1.56 没有显著性差异,而随着改性剂量的增加,杂质的量也越来越多,容易污染色谱柱。在温度 60 °C,改性剂量 150 μ L,动态萃取体积 8 mL 及静态萃取时间 5 min 的条件下,压力分别为 30,35 和 45 MPa 进行超临界流体萃取,其他条件同上,结果所得峰面积在 1.53,45 MPa 和 40 MPa 条件下基本一致,可见溶解度参数理论有一定的实用性。由于在实验中运用了溶解度参数理论预测溶质的溶解压力,因此减少了影响因素,大大减小试验次数,为 SFE 萃取条件优化提供了便利。

2 检测限 精密度和加样回收试验

将标准溶液稀释至信噪比为 1:3 时,计算出检测限为 0.538 ng。按样品测定方法于日内分别在 4,8,12 h,于日间 1,2,3 d 测定 3 个不同浓度的各标准溶液,结果日内精密度为 1.35%,日间精密度为 2.15%, $n=3$ 。在药材中定量加入标准液 0.8 mL,挥干,测定方法相同,同时做样品对照,测得加样回收率为 95.3%, $RSD=4.3%$, $n=3$ 。

3 样品测定

比较了两种萃取法。SFE 法:条件为压力 40.0 MPa,温度 60 °C,改性剂量 150 μ L,动态萃取体积 8 mL,静态萃取时间 10 min。精密称取粉碎后过 100 目筛的药材 100 mg 置 SFE 0.5 mL 萃取池中,于萃取条件下进行萃取,限流器温度为 60 °C,吸收剂用乙酸乙酯,吸收完毕后精密取内标 100 μ L 用乙酸乙酯定容至 10 mL,进行气相色谱分析。

超声溶剂萃取法^[4]:精密称取粉碎后过 100 目筛的药材 100 mg,加入适量丙酮,在超声波提取器中提取 120 min,冷却后定量过滤于 10 mL 量瓶中,精密取内标 100 μ L 用丙酮稀释至刻度,进行气相色谱分析。

结果:药材中丹参酮 II_A 的含量 SFE 法 1.5%,超声溶剂法为 1.1%,经 t 检验, $t=3.915 > t_{0.5,4}$ ($t_{0.5,4}=2.78$),有显著性差异,色谱图见图 1。

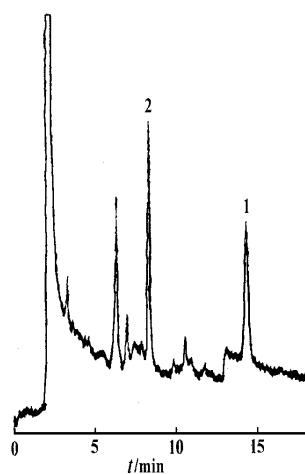


Fig 1 Chromatographic profile of *Salvia miltiorrhiza*

1. Tanshinone II_A; 2. Diazepam internal standard

REFERENCES:

- [1] Committee of Pharmacopoeia of People's Republic of China. *Pharmacopoeia of People's Republic of China*. 1995 Edition. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 62 - 63.
- [2] Shun WJ, Meng HB, Gao H. Determination of tanshinone II_A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge by solid phase extraction-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (in Chinese), 1996, **16**(3): 199 - 200.
- [3] Liu WJ, Wang BQ, Li XF. Determination of tanshinone by TLC fluorescence chromatography [J]. *Northwest Pharm J* (in Chinese), 1996, **11**(6): 224 - 226.
- [4] Hu SY. Research of determination of tanshinone II_A by ultrasonic extraction-HPLC [J]. *J Mod Appl Pharm China* (in Chinese), 1993, **10**(4): 18 - 20.
- [5] King JW. Fundamentals and applications of supercritical fluid extraction in chromatographic science [J]. *J Chromatogr Sci*, 1989, **27**(7): 355 - 364.
- [6] King JW, Friedrich JP. Quantitative correlations between solute molecular structure and solubility in supercritical fluids [J]. *J Chromatogr*, 1990, **517**(2): 449 - 458.
- [7] Chen B, Liu LL, Fang HS, et al. Determination of psoralen and isopsoralen in Baishi pill and Baidianfeng capsules by supercritical fluid extraction-CGC [J]. *Chin J Pharm Anal* (in Chinese), 1999, **19**(6): 394 - 396.
- [8] Chen B, Liu LL, Zhai ZX. Determination of major components in *Psoralea corylifolia* L. by using supercritical fluid extraction [J]. *Chin J Chromatogr* (in Chinese), 2000, **18**(1): 61 - 63.

SFE CGC DETERMINATION OF TANSINONE IN *SALVIA MILTIORRHIZA BUNGE*

CHEN Bin¹ , ZHU Mei² , XING Wong-xing¹ , LIU Li-li¹ , WU Yu-tian¹

(1 . School of Pharmacy , 2 . Department of Basic Medicine , Second Military
Medical University , Shanghai 200433 , China)

ABSTRACT: **AIM** To analyze tanshinone II_A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge by supercritical fluid extraction (SFE) coupled with capillary gas chromatography (CGC). **METHODS** The solution pressure was predicted by solubility parameter theory, the extraction conditions were confirmed by orthogonal design in which temperature, volume of modifier and dynamic extracting volume had been studied in three levels. **RESULTS** This method is quick, convenient, precise and accurate, added sample recovery is 95.3%, RSD = 4.27%. **CONCLUSION** Compared with the method of ultrasonic extraction, significantly better qualitative and quantitative result could be obtained by SFE-CGC and expend less organic solvent then make less pollution.

KEY WORDS: capillary gas chromatography; supercritical fluid extraction; tanshinone II_A; *Salvia miltiorrhiza*