

HPLC 法测定注射用红花黄色素中羟基红花黄色素 A

陆仙芸, 林德君, 徐升亮

(浙江永宁制药厂, 浙江 台州 318020)

红花提取物及其制剂中的羟基红花黄色素 A 的高效液相色谱法分析已有不少报道, 流动相的选择也各不相同, 如采用甲醇-0.2% 醋酸水溶液作为流动相, 由于低 pH 值可使色谱填料变脆, 易于粉碎溶解, 柱压因而逐渐增加, 色谱柱寿命较短; 祝明等^[1]采用的流动相仅针对红花黄色素测定进行了探讨, 未涉及到羟基红花黄色素 A 的测定; 杨晓君^[2]、赵明波^[3]采用的甲醇-0.5% 磷酸溶液作为流动相, 柱效低、分离度差、峰拖尾严重。本实验对色谱条件下的流动相作了优化选择, 使得注射用红花黄色素中的羟基红花黄色素 A 在较短的时间内得到分离完全, 从而使定量准确, 测定方便, 便于实际工作中的质量检测控制。

1 仪器与试剂

美国 BIO-RAD 型 HPLC 仪。羟基红花黄色素 A 对照品由中国药品生物制品检定所提供; 注射用红花黄色素为红花药材加工提取的单味制剂, 由浙江永宁制药厂生产。四丁基氢氧化铵溶液、磷酸二氢钾、磷酸为分析纯; 乙腈色谱纯, 注射用水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液-10% 四丁基氢氧化铵溶液 (170 : 800 : 20, 用 1 mol/L 磷酸调 pH 5.5), 柱温 25 °C, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长 360 nm, 进样体积 20 μL。羟基红花黄色素 A 峰的保留时间约为 14 min。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取羟基红花黄色素 A 对照品约 18 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.2.2 供试品溶液的制备: 精密称取注射用红花黄色素约 25 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.3 线性关系考察: 精密称取羟基红花黄色素 A

对照品适量, 加水制成质量浓度分别为 49.51、99.01、198.02、297.04、396.05、495.06、594.07、693.09、792.10、891.11 μg/mL, 分别进样 20 μL, 在上述色谱条件下测定峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 羟基红花黄色素 A 进样量为横坐标 (X) 作线性回归, 线性范围为 0.990 12~17.822 2 μg, 回归方程为: $Y=103\,493.154\,21\,X-6\,166.324\,38$, $r=0.999\,99$ 。

2.4 精密度试验: 精密称取羟基红花黄色素 A 对照品适量, 加水制成 183 μg/mL 的溶液, 进样量 20 μL, 连续进样 5 次, 羟基红花黄色素 A 峰面积的 RSD 为 0.18%。

2.5 重现性试验: 取同一批注射用红花黄色素配制成 6 份溶液, 测定羟基红花黄色素 A 质量分数, 计算得其 RSD 为 0.58%。

2.6 稳定性试验: 取注射用红花黄色素供试品溶液分别在 0、1、2、3、4、6、8 h 测定, 结果羟基红花黄色素 A 的质量分数的 RSD 为 0.15%。

2.7 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取同一批样品约 12.5 mg, 9 份, 置于 100 mL 量瓶中, 分 3 个水平分别加入 1.464、1.800、2.180 mg/mL 羟基红花黄色素 A 对照品溶液各 5 mL, 用水溶解并稀释至刻度, 各进样 20 μL, 结果加样回收率为 98.8%, RSD 为 0.58% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 精密称取对照品和供试品各 3 份, 分别进样 20 μL, 在上述色谱条件下测定样品中羟基红花黄色素 A, 结果见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 样品中羟基红花黄色素 A 的测定结果 ($n=3$)Table 1 Hydroxy safflower yellow A in samples ($n=3$)

批号	羟基红花黄色素 A/(mg · g ⁻¹)
20050301	785
20050302	784
20050303	750
20050304	762
20050305	777

3 讨论

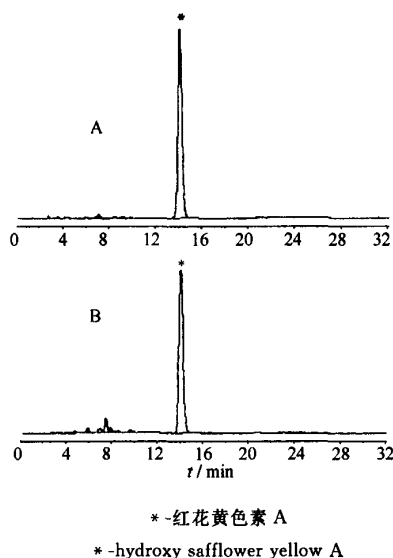


图 1 羟基红花黄色素 A 对照品(A)和注射用红花黄色素(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of hydroxy safflower yellow A reference substance (A) and Safflower Yellow Injection

羟基红花黄色素 A 极性较强,强酸性,具有亲水性,根据反相离子对 HPLC 理论,可采用含有四丁基氢氧化铵离子的流动相,羟基红花黄色素 A 在流动相中与四丁基氢氧化铵离子生成不带电荷的中性离子,增加了非极性固定相中的溶解度,使分配系数增加,改善分离效果。加入磷酸盐是采用离子抑制色谱法,加入磷酸盐是作为抑制剂,调节 pH 值,抑制组分的分离,增加中性分子存在的几率。

在乙腈-0.03 mol/L 磷酸二氢钾溶液-10%四丁基氢氧化铵溶液(170:800:15)为流动相,用磷酸调 pH 时,当 pH 5.5 时,图谱分离比较好。

乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液-10%四丁基氢氧化铵溶液(170:800:15)为流动相,用磷酸调 pH 5.5 时,改变磷酸二氢钾的浓度。当磷酸二氢钾为 0.05 mol/L 时,图谱分离比较好。

当 10%四丁基氢氧化铵溶液为 20 mL 时,图谱分离比较好。

采用乙腈作为有机调节剂,流动相的黏度较低,有利于色谱分析。乙腈比例降低,各组分的保留均增加。乙腈比例变化对主峰的保留影响最大,乙腈比例由 17%降至 12%,主峰的保留时间由 11 min 增至 58 min。在本色谱系统中,为同时兼顾色谱选择性和分析时间等因素,乙腈比例定为 17%。

本实验所采用的流动相具有足够的缓冲容量,在线性范围测定过程中,羟基红花黄色素 A 的色谱峰形不随其变化而变化,色谱峰形均正常。

References:

- [1] Zhu M, Guo Z X. Determination of the safflower yellow A in *Carthamin tinctorius* [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2000, 23 (8): 458-459.
- [2] Yang X J, Wu G R, Wang Y. Studies of extraction methods of utility portion in *Carthamus tinctorius* [J]. *J Xinjiang Med Univ* (新疆医科大学学报), 2005, 28 (1): 45-47.
- [3] Zhao M B, Deng X L, Wang Y L, et al. Determination of hydroxy safflower yellow A in *Carthamus tinctorius* L. by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2003, 21 (6): 593-595.

薄层扫描法测定胃康胶囊中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁

马 莉¹, 唐健元¹, 李祖伦¹, 肖小河², 廖庆文³, 冯少华²

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610075; 2. 解放军 302 医院全军中医药研究所, 北京 100039; 3. 湖南中医学院, 湖南 长沙 410007)

胃康胶囊为临床经验方,由人参、藿香、白扁豆、甘草等中药组成,具有补脾益胃、化湿浊、和中止呕的作用,临床用于治疗小儿脾虚湿蕴之吐泄不止,不思饮食。方中以人参为君药,人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 均为其特征的有效成分。为保证成品质量,本实验建立了双波长薄层扫描法测定胃康胶囊中人参

皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rg₁ 的测定方法。

1 仪器与试剂

瑞士 CAMAG TLC Scanner—3; 瑞士 CAMAG ATS-4 自动点样机;恒温鼓风干燥箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司);AE163 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司);高效硅胶 G 薄层板(青岛

收稿日期:2005-07-24

作者简介:马 莉(1977—),女,四川崇州人,助理研究员,在读博士,研究方向为中药学。

Tel: (010) 63246736 E-mail: marytjy66@yahoo.com.cn