

HPLC法测定祛风止痛胶囊中羟基红花黄色素A

吴 锋¹, 豆久锋¹, 陈忠良^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003; 2. 金华市药品检验所, 浙江 金华 321000)

摘要:目的 建立祛风止痛胶囊中羟基红花黄色素A的测定方法。方法 色谱柱为Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5%磷酸溶液(25:75); 检测波长为403 nm; 柱温为35℃; 体积流量为1.0 mL/min; 进样量为10 μL。结果 羟基红花黄色素A进样量在0.026~1.050 μg呈良好的线性关系($r=0.9997$), 样品平均回收率为98.66%, RSD为1.71%。结论 此方法操作简便、专属性强、灵敏度高、重现性好, 可用于祛风止痛胶囊中羟基红花黄色素A的控制。

关键词: 祛风止痛胶囊; 羟基红花黄色素A; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)11-1817-02

祛风止痛胶囊由红花、独活、老鹳草等7味中药材组成, 具有祛风止痛、舒筋活血、强壮筋骨的功效, 用于四肢麻木、腰膝疼痛、风寒湿痹等症。红花黄色素是红花的主要水溶性组分, 为多种黄酮类混合物, 具有活血通经、祛瘀止痛的功效, 其中小分子有效成分羟基红花黄色素A是红花的主要药效物质, 是评价红花及其制剂质量的主要指标^[1], 且原标准没有关于红花的任何控制项目。因此本实验建立了祛风止痛胶囊中羟基红花黄色素A的测定方法, 为更好地控制祛风止痛胶囊的质量提供了参考依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 梅特勒XS105DU 分析天平。

羟基红花黄色素A对照品由江西本草天工科技有限公司提供, 经HPLC法鉴定基质量分数大于97%; 祛风止痛胶囊为威阳步长制药有限公司生产。水为娃哈哈纯净水, 甲醇为色谱纯(默克公司), 其余为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.5%磷酸溶液(25:75); 检测波长为403 nm; 柱温为35℃; 体积流量为1.0 mL/min; 进样量为10 μL。理论板数按羟基红花黄色素A峰计算大于4000。

2.2 对照品贮备液的制备: 称取羟基红花黄色素A对照品52.52 mg, 置100 mL量瓶中, 加25%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品内容物, 研细, 称取约2.5 g, 精密称定, 精密加25%甲醇25 mL, 称定

质量, 超声处理30 min, 放冷, 用25%甲醇补足减失的质量, 离心, 取上清液用微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密量取羟基红花黄色素A对照品贮备液5 mL, 置100 mL量瓶中, 加25%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液1、5、10、20、30、40 μL分别注入液相色谱仪(每份重复进样2次), 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=2049.4X+45.21$ ($r=0.9997$), 表明进样量在0.026~1.050 μg呈良好的线性关系。

2.5 阴性空白试验: 取处方中除红花外的另外药味按制法制成阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液, 并按上述色谱条件测定。结果在羟基红花黄色素A对照品峰相应的位置未见其他的干扰峰, 见图1。

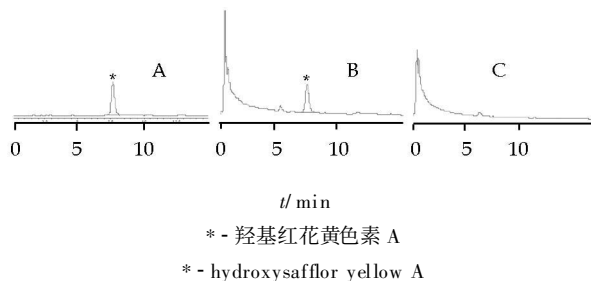


图1 羟基红花黄色素A对照品(A)、祛风止痛胶囊(B)和阴性样品(C)的HPLC色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of hydroxysafflor yellow A reference substance (A), Qufeng Zhitong Capsula (B), and negative sample (C)

2.6 精密度试验: 分别精密吸取羟基红花黄色素 A 对照品溶液 10 μL 重复进样 6 次, 测定峰面积值, 结果峰面积的 RSD 为 0.59%。

2.7 重现性试验: 分别称取批号为 080706 的供试品 6 份, 制备供试品溶液并测定羟基红花黄色素 A 的质量分数, 结果其 RSD 为 0.92%。

2.8 稳定性试验: 取供试品溶液于制备后 2、4、8、12、24、32 h 分别进样 5 μL , 测定羟基红花黄色素 A 的峰面积值, 计算得其 RSD 为 1.85%。结果表明供试品溶液在 32 h 内稳定。

2.9 回收率试验: 精密称取批号为 080706 的样品 (含羟基红花黄色素 A 0.25 mg/g) 6 份, 分别精密加入羟基红花黄色素 A 对照品溶液 5、5、10、10、15、15 mL, 制备供试品溶液, 按上述方法测定, 计算回收率, 结果平均加样回收率为 98.66%, RSD 为 1.71%。

2.10 样品的测定: 3 批样品制备供试品溶液, 在上述色谱条件进样测定, 以峰面积计算羟基红花黄色素 A 的质量分数, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 流动相的选择: 羟基红花黄色素 A 是一种小

表 1 祛风止痛胶囊中羟基红花黄色素 A 的测定结果

Table 1 Determination of hydroxysafflor yellow A in Qufeng Zhitong Capsula

批号	羟基红花黄色素 A/(mg·g ⁻¹)
080706	0.25
20050626	0.31
20061213	0.28

分子黄酮类成分, 呈弱酸性, 故在流动相中加入少量的磷酸溶液抑制其离解, 改善其峰形及分离效果。《中国药典》2005 年版一部红花项下流动相为甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液 (26: 2: 72), 通过试验发现选用甲醇-0.5% 磷酸溶液 (25: 75) 可得到比药典方法更好的峰形, 理论板数达到 4 000 以上, 而且分析时间适中。

3.2 提取溶剂及方法的选择: 曾用甲醇、50% 甲醇、25% 甲醇作为提取溶剂进行加热回流及超声处理的比较试验, 结果显示 25% 甲醇超声处理 30 min 提取效率最高。操作中发现直接滤过比较困难, 为解决滤过难的问题采用了离心后再用微孔滤膜滤过方法。

参考文献:

- [1] 侯世斌, 李江伟, 苏幼红, 等. 羟基红花黄色素 A 人工抗原的制备[J]. 中草药, 2008, 39(10): 1483-1486

《中草药》杂志 2011 年征订启事

《中草药》杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级期刊, 月刊, 国内外公开发刊。

本刊创刊于 1970 年 1 月, 1992 年荣获首届全国优秀科技期刊评比一等奖; 2001 年荣获中国期刊方阵“双奖期刊”; 2003 年荣获第二届全国国家期刊奖; 2005 年荣获第三届全国国家期刊奖提名奖; 2004—2009 年连续 5 年荣获“百种中国杰出学术期刊”; 2008 年荣获“中国精品科技期刊”; 2009 年荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”。本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊。多年来一直入选“CA 千刊表”, 并被美国《国际药学文摘》(IPA)、美国《医学索引》(IM/MEDLINE)、荷兰《医学文摘》(EM)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《质谱学通报(增补)》(MSB-S)、荷兰《斯高帕斯数据库》(Scopus)、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JST)、《英国皇家化学学会系列文摘》(RSC)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich PD) 等国际著名检索系统收录。

本刊主要报道中草药化学成分; 药剂工艺、生药炮制、产品质量、检验方法; 药理实验和临床观察; 药用动、植物的饲养、栽培、药材资源调查等方面的研究论文, 并辟有中药现代化论坛、综述、短文、新产品、企业介绍、学术动态和信息等栏目。

承蒙广大作者、读者的厚爱 and 大力支持, 本刊稿源十分丰富。为了缩短出版周期, 增加信息量, 2011 年本刊由 A4 开本每期 168 页扩版为 208 页, 定价 35.00 元。国内邮发代号: 6—77、国外代号: M 221。请到当地邮局订阅。

为提高稿件处理效率, 更好地为广大读者和作者服务, 从 2010 年 1 月开始, 天津中草药杂志社开通网上在线投稿系统。欢迎广大作者踊跃投稿, 欢迎广大读者订阅, 欢迎与中外制药企业合作, 宣传推广、刊登广告 (包括处方药品广告)。

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号 (300193)

电话: (022) 27474913 23006821 传真: (022) 23006821

开户银行: 兴业银行天津南开支行 账号: 44114010010081504 户名: 天津中草药杂志社

E-mail: zcy@tiprpress.com 网址: www. 中草药杂志社. 中国或 www. tiprpress.com