

HPLC 法测定舒胸片中羟基红花黄色素 A 的含量

邱国庆¹ 黄海欣² (1.河南省南阳市卧龙区保健院 南阳 473061 2.河南省南阳市药品检验所 南阳 473061)

摘要 :目的 :建立舒胸片含量测定方法。方法 :采用 HPLC 法对舒胸片中红花所含的羟基红花黄色素 A 作含量测定,色谱柱为 Welch Materials 柱 C₁₈ 250mm×4.6mm 5μm,以甲醇-0.7%磷酸溶液(28:72)为流动相,检测波长为 403nm。结果 :羟基红花黄色素 A 的线性范围为 0.0303~0.3030mg·ml⁻¹,平均加样回收率为 99.55%,RSD 为 1.4%。结论 :本法简便、灵敏、准确、专属性强,具有一定的实用性,为舒胸片中羟基红花黄色素 A 的含量测定提供了科学依据。

关键词 :羟基红花黄色素 A 舒胸片 HPLC

中图分类号 :R927.2

文献标识码 :B

文章编号 :1672-8351(2012)03-0008-02

Determination of Hydroxysafflor yellow A in Shuxiong Tablet by HPLC

Abstract Objective: To establish the determination of Hydroxysafflor yellow A in Shuxiong Tablet. Methods HPLC method was used for determination of Hydroxysafflor yellow A in Shuxiong Tablet. Results The conten of Hydroxysafflor yellow A in Shuxiong Tablet was determination exactly by HPLC. Conclusions This test provide scientific basis for the revision of the quality control standards of Shuxiong Tablet.

Key word :Hydroxysafflor yellow A Shuxiong Tablet HPLC

舒胸片载于《中国药典》^[1],由三七参、红花和川芎三种药组成,具有活血化瘀、通络止痛之功效。用于瘀血阻滞所引起的胸痹、证见胸闷、胸前区刺痛和冠心病心绞痛等症,是治疗心脑血管疾病最常用的中成药之一。红花是本品中的主要组分,又为较贵重药材,为保证临床用药安全有效,特对舒胸片中红花所含羟基红花黄色素 A 进行了含量测定。结果表明,该法简便、快速、重现性好,可有效地控制药品质量。

1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪,Waters2996 紫外检测器,Empower2 色谱管理软件;色谱柱 Welch Materials 柱 C₁₈ 250mm×4.6mm 5μm;HK250 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);舒胸片为某制药股份有限公司生产(批号为 110713,110714,110715)。羟基红花黄色素 A 对照品购自中国药品生物制品检定所(批号为 111637-200905),乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为 AR。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 :Welch Materials 柱 C₁₈ 250mm×4.6mm 5μm;流动相 :以甲醇-0.7%磷酸溶液(28:72)为流动相,检测波长为 403nm,流速 1ml/min,进样量 10μl,柱温 30℃。在此条件下,样品中羟基红花黄色素 A 与其他组分取得了较满意的分离,理论塔板数以羟基红花黄色素 A 峰计算不低于 3000。

2.2 供试品溶液制备

取样品 10 片,除去包衣,精密称定,研细,精密称取约 5 片的量,置具塞锥形瓶中,精密加入 25% 甲醇 50ml,密塞,称定重量,超声处理(功率 350W,频率 35kHz)30 分钟,放冷,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液制备

精密称取羟基红花黄色素 A 对照品适量,加 25% 甲醇制成每 1ml 含羟基红花黄色素 A 2.525mg 溶液作为对照品贮备液。取对照品贮备液 1ml,置 20ml 量瓶中,加 25% 甲醇至刻度,摇匀,得每 1ml 含羟基红花黄色素 A 0.1262mg。

2.4 阴性对照溶液制备

按中国药典舒胸片项下的处方和制法制得不含红花的阴性样品;再按 2.2 供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液,照 2.1 色谱条件试验。

2.5 测定方法

分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液,按 2.1 色谱条件测定,采用外标法计算即得。结果,阴性对照样品对测定无干扰,供试品分离度符合要求(见图 1~3)。

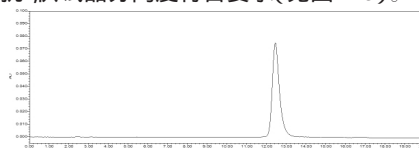


图 1 羟基红花黄色素 A HPLC 色谱图



图 2 舒胸片 HPLC 色谱图

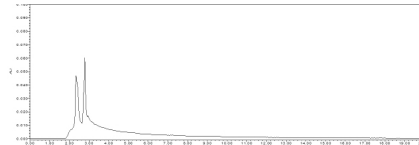


图 3 舒胸片阴性 HPLC 色谱图

3 方法学考察

3.1 标准曲线的绘制

精密称取羟基红花黄色素 A 对照品贮备液 3ml,置 25ml 量瓶中,加 25% 甲醇至刻度,即得每 1ml 含羟基红花黄色素 A 0.3030mg 的对照溶液。精密吸取 1.0,2.0,4.0,8.0,10.0ml,分别置 10ml 量瓶中,加 25% 甲醇至刻度,摇匀,按上 2.1 条件测定。以测得的羟基红花黄色素 A 峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制成标准曲线,求得回归方程为:Y=6316825X+2628, r=0.9985,结

取样品约 4.0g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 25% 的甲醇 50ml,密塞,称定重量,超声处理(功率 300W,频率 50kHz)40 分钟,放冷,再称定重量,用 25% 的甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,作为样品溶液;另取羟基红花黄色素 A 对照品适量,精密称定,加 25% 甲醇制成每 1ml 含 60μg 的溶液,作为对照品溶液;分别精密量取上述溶液各 10μl 注入色谱仪测定。按外标法计算含量。结果见表 2。

参考文献

[1] 国家药典委员会,中华人民共和国药典(一部)。

表 2 样品中桂皮醛含量测定结果

批号	取样量(g)	测得峰面积值	含量(mg/g)	平均含量(mg/g)
020907020601	4.0011	2899453	1.13	1.13
	4.0023	2920441.5	1.12	
020907020602	3.9873	1465445.9	1.28	1.28
	4.0014	1476032.0	1.28	
020907020603	4.0068	1478914.4	1.28	1.27
	4.0056	1457265.7	1.26	

3 样品的含量测定

果表明 羟基红花黄色素 A 在(0.0303~0.3030)mg·ml⁻¹ 的浓度范围呈良好的线性关系。

3.2 精密性试验

精密吸取对照品溶液,按 2.1 项下方法重复进样 5 次,测得峰面积积分值,其 RSD 为 1.09%。

3.3 稳定性试验

精密吸取同一份样品液,按 2.1 项下方法进行测定,每隔 4 小时进样一次,共测定 5 次,测得峰面积积分值,其 RSD 为 1.21%。

3.4 重复性试验

取同一批号样品 5 份,按 2.1 项下条件连续测定,测得峰面积积分值,其 RSD 为 1.37%。

3.5 加样回收率试验

精密称取已测得含量的舒胸片 6 份(每份约 2 片量,平均片重 0.3017g,每片含羟基红花黄色素 A 1.125mg,批号为 110713),分别加入对照品贮备液(每 1ml 含羟基红花黄色素 A 2.525mg) 0.5、0.5、1.0、1.0、1.5、1.5ml,按 2.2 项下方法制得供试品溶液,再按 2.5 项下方法测定,每一样品重复 3 次,取其平均值,结果见表 1。

表 1 加样回收测量结果表(平均回收率 99.55% RSD:1.4%)

称样量(g)	样品羟基红花黄色素 A 含量(mg)	羟基红花黄色素 A 加入量(mg)	实测量(mg)	回收率(%)
0.6062	2.2604	1.2625	3.4983	98.05
0.5916	2.2060	1.2625	3.4796	100.88
0.6120	2.2821	2.5250	4.8407	101.33
0.5915	2.2056	2.5250	4.6990	98.75
0.5953	2.2198	3.7875	6.0031	99.89
0.5907	2.2026	3.7875	5.9295	98.40

3.6 样品含量测定

取某制药股份有限公司生产的样品 3 批,分别按 2.2 项下方法制成供试品溶液,按 2.1 项下条件测定,采用外标法计算即得,见表 2。

表 2 三批样品中羟基红花黄色素 A 的含量(n=3)

批号	羟基红花黄色素 A 含量(mg/片)	RSD%
110713	1.125	1.31
110714	1.093	1.21
110715	1.207	1.07

4 讨论

4.1 舒胸片对心脑血管疾病有特殊的疗效,为临床上治疗心脑血管疾病常用的药品,对冠心病的治疗尤为突出。所以,临床上用量很大。红花是舒胸片中的主要组分,红花中所含的羟基

红花黄色素 A 有较强的活血祛瘀作用。对药品中所含红花,现在已经研究出好的含量测定方法,通过试验研究建立了羟基红花黄色素 A 的含量测定,以弥补舒胸片无红花含量测定项的空白。这对控制舒胸片药品质量,保证临床用药安全有效,提高药品质量标准有重要的意义。同时,对含羟基红花黄色素 A 的其他制剂的检测也具有一定的参考意义。

4.2 溶剂的选择:羟基红花黄色素 A 能够溶于水、甲醇、乙醇等溶剂^[2]。为了选择对羟基红花黄色素 A 提取完全的溶剂,首先用中国药典红花项下羟基红花黄色素 A 含量测定提取所用溶剂试验,而后又分别用水和甲醇提取试验。结果,中国药典用 25% 甲醇提取,测定时杂质少,测出羟基红花黄色素 A 含量最高,本试验就采用了中国药典对红花黄色素 A 提取使用的溶剂。

4.3 提取方法的选择:本试验采取了回流提取和超声提取的试验。两种方法比较,超声提取测定结果含量较高,而且所用时间短,方法简便,便于操作。所以,就采用了超声提取方法。在试验中对提取时间考察发现,提取 30 分钟比提取 20 分钟含量较高,提取 30 分钟和 40 分钟测定的含量基本相同,最后采用提取 30 分钟。

4.4 色谱条件的选择:参考中国药典 2010 年版红花项下羟基红花黄色素 A 含量测定的色谱条件和有关文献^[3-5]试验,结果,中国药典红花项下的色谱条件分离效果最好,本试验就采用了 2.1 项下色谱条件。

4.5 流动相的选择:试验中,按中国药典红花项下的流动相:甲醇-乙腈-0.7%磷酸溶液(26:2:72)试验后,又改为甲醇-0.7%磷酸溶液(28:72)试验,结果对 HPLC 图谱没有影响,只是压力有所降低,但降低幅度很小,所以,改为本试验的流动相组分和比例。

4.6 供试液的制备:参照中国药典红花项下羟基红花黄色素 A 含量测定时红花的取样量,结合舒胸片每片所含红花量取样量,制得供试液。

参考文献

- [1]药典委员会.中国药典[S].2010 年版,第一部,化学工业出版社,2010:141,1166.
- [2]张红艳,孙红胜,等.红花及其复方制剂的研究进展[J].中国药师,2010,13(7):1037-1038.
- [3]董文桑,王俊红,等.HPLC 法测定舒筋活络酒中羟基红花黄色素 A 含量[J].中国药师,2009,12(10):1431-1432.
- [4]彭伟文,高玉桥,等.反相高效液相测定骨科洗剂 1 号方中羟基红花黄色素 A 的含量[J].中国药房,2006,17(24):1898-1899.
- [5]周春红,黄海欣,等.HPLC 法测定痛经宝颗粒中羟基红花黄色素 A 的含量[J].中国药师,2011,14(8):1231-1232.

(上接 112 页)

抑制胃黏膜前列腺素合成,从而破坏胃黏膜屏障,诱发慢性胃炎。②病毒因素:临床研究发现,很多细菌,尤其是幽门螺旋杆菌感染,对于胃黏膜细胞的炎症浸润程度密切相关,幽门螺旋杆菌的慢性持续性感染可能是导致慢性胃炎发生的重要病因。③免疫因素:当前医学通过对萎缩性胃炎患者以及慢性甲状腺炎等自身免疫性疾病患者研究发现,人体自身免疫功能对慢性胃炎的发病可能有着重要影响,人体在患上急性胃炎之后,胃黏膜病变持久不愈或反复发作,均可形成慢性胃炎。

3 中医对慢性胃炎的治疗方法

中医治疗慢性胃炎应遵循对症下药,扶正祛邪,标本缓急的治疗原则,根据脾胃生理病理特点进行调理兼顾的治疗。

4 中医药物疗法

中医治疗慢性胃炎以健脾消积、和胃降逆、疏肝理气为主。常用药方如下:①取生鸡内金、淮山药各 100g,醋制半夏 60g,浙贝母 40g,研成细末,以水冲服,每日 3 次,每次 3g,适于各型胃脘痛者。②取蒲公英、炒黄芪各 30g,白芍、丹参、百合各 20g,乌药、焦三仙各 10g,甘草 6g,水煎成剂,每日 1 剂,分 2 次内服,主治浅表性慢性胃炎。③取白芍 9g,沙参、石斛、百合各 10g,玉竹、山药、川楝子、扁豆各 12g,麦冬 15g,水煎,每日 1

剂,分 2 次内服。益胃养阴,主治胃阴不足型慢性胃炎。④取陈皮、元胡索各 10g,蒲公英、白芍、丹皮、青皮各 9g,川楝子、栀子 6g,黄连 5g,水煎,每日 1 剂,分 2 次内服。清胃疏肝,主治肝胃郁热型胃炎。⑤取茯苓 12g,党参 10g,陈皮、白术 9g,炙甘草 6g,广木香 5g,砂仁 4g,加水煎服,每日 1 剂,分 2 次内服,本方健脾和胃,适用于慢性胃炎。⑥取柴胡、白芍 10g,香附、枳壳、陈皮各 6g,绿梅花 9g,佛手 15g,甘草 6g,水煎,每日 1 剂,分 2 次内服,疏肝和胃,主治肝胃不和型慢性胃炎。⑦取丹参 10g,赤芍、川楝子、生蒲黄各 9g,五灵脂、檀香、砂仁、香附各 6g,水煎,每日 1 剂,分 2 次内服。方活血行气,主治气滞血瘀型慢性胃炎。

5 总结

总之,慢性胃炎是影响人体健康的常见性消化道疾病,中医认为,慢性胃炎多因脾胃受损,气机不畅,通降失调所致。基于中医理论下,临床上根据患者病情症状,采用中药疗法或针灸疗法进行治疗,调养慢性胃炎,效果明显。

参考文献

- [1]冯燕红.慢性胃炎的中医药治疗经验[J].中国民间疗法,2011.
- [2]刘本立.针灸治疗慢性胃炎研究进展[J].湖南中医杂志,2007.