

HPLC法同时测定舒心通脑胶囊中羟基红花黄色素 A 和栀子苷含量*

张艳利, 杨兴鑫, 李晓妮**

(山西医科大学, 太原 030001)

摘要 目的: 建立同时测定舒心通脑胶囊中羟基红花黄色素 A 和栀子苷含量的方法。方法: 采用 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 - 乙腈 (89:11) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm, 柱温 30℃。结果: 羟基红花黄色素 A 及栀子苷浓度分别在 0.016~0.080 mg·mL⁻¹ 和 0.024~0.120 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好; 平均回收率 (n=5) 分别为 99.1% (RSD=1.0%) 和 100.0% (RSD=1.5%)。结论: 本方法操作简单, 结果准确, 可用于舒心通脑胶囊的质量控制。

关键词: 舒心通脑胶囊; 羟基红花黄色素 A; 栀子苷; HPLC

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)12-2064-03

HPLC determination of hydroxysafflor yellow A and geniposide in Shuxin Tongnao capsules*

ZHANG Yan-li YANG Xing-xin, LI Xiaoni**

(Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract Objective To develop an HPLC method for the determination of hydroxysafflor yellow A and geniposide in Shuxin Tongnao capsules. **Methods** The HPLC analysis was performed on Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase of potassium dihydrogen phosphate (0.05 mol·L⁻¹) - acetonitriles (89:11) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹; The detective wavelength was 230 nm and the column temperature was 30℃. **Results** The linear range of hydroxysafflor yellow A was 0.016 - 0.080 mg·mL⁻¹, and the average recovery was 99.1% with RSD=1.0%; The linear range of geniposide was 0.024-0.120 mg·mL⁻¹, and the average recovery was 100.0% with RSD=1.5%. **Conclusion** The method is simple, accurate, and can be used for the quality control of Shuxin Tongnao capsules.

Key words Shuxin Tongnao capsules; hydroxysafflor yellow A; geniposide; HPLC

舒心通脑胶囊来源于临床经验方, 是由红花、栀子、三七、当归、熟地黄多味中药材组成, 具有益气活血、化瘀通络之功效。主要用于气虚血滞、心悸、气短等症。方中红花为君药, 具有活血通经、散瘀止痛的功效, 其主要成分为羟基红花黄色素 A^[1]; 栀子为臣药, 经现代药理学研究, 其在心血管系统中具有中枢降压作用、防治动脉粥样硬化及抗血栓等, 其主要成分为栀子苷^[2]。为了有效控制制剂质量, 参考有关羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量测定方法^[3,4], 本文建立了同时测定制剂中羟基红花黄色素 A 和栀子苷含量的 HPLC 法。实验结果表明, 方法准确度高、重现性好, 可作为舒心通脑胶囊的质量

控制方法。

1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪 (LC-10ATvp 型输液泵, SPD-10Avp 型紫外-可见光检测器, LC 色谱工作站)。对照品羟基红花黄色素 A (批号 111637-200704) 和栀子苷 (批号 110749-200613) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇 (北京化工厂) 及乙腈 (山东禹王实业有限公司) 为色谱纯; 水为二次蒸馏水; 其余试剂均为分析纯。舒心通脑胶囊 (山西医科大学自制, 规格为每粒 0.3 g) 批号分别为 20090402, 20090406, 20090409。

* 山西省科技攻关厅攻关项目 (2007031201-01)

** 通讯作者 Tel: 13703515246; E-mail: nini1235@163.com

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品混合溶液 精密称取羟基红花黄色素 A 对照品 4.03 mg 及栀子苷对照品 5.99 mg 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得羟基红花黄色素 A 对照品储备液和栀子苷对照品储备液。分别精密吸取上述储备液各 2 mL, 置于同一 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品 0.1 g 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 加入 25% 甲醇 25 mL, 称定重量, 超声处理 (150 W, 40 kHz 30 min) 放冷, 称定重量, 补足失重; 静置, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.1.3 阴性对照溶液 按处方比例称取除红花以外的其余药味, 按舒心通脑胶囊制备工艺制成缺红花的阴性样品, 按“2.1.2”项下方法制成缺红花的阴性样品溶液; 同法制备缺栀子的阴性样品溶液。

2.2 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾-乙腈 (89:11); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。取对照品混合溶液、供试品溶液、阴性样品溶液, 在本文色谱条件下进样, 记录色谱图。结果理论塔板数按羟基红花黄色素 A 计不低于 7000 羟基红花黄色素 A 色谱峰与相邻色谱峰的分离度不低于 1.5 栀子苷色谱峰与相邻色谱峰的分离度不低于 1.6 样品中其他成分对羟基红花黄色素 A 和栀子苷测定无干扰, 见图 1。

2.3 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下羟基红花黄色素 A 对照品储备液和栀子苷对照品储备液各 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 mL, 分别一一对应置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得系列浓度对照品混合溶液。在上述色谱条件下进样测定。分别以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制工作曲线, 求得羟基红花黄色素 A 及栀子苷回归方程分别为:

$$Y = 2.000 \times 10^7 X - 1.538 \times 10^3 \quad r = 0.9997$$

$$Y = 2.000 \times 10^7 X - 6.161 \times 10^3 \quad r = 0.9998$$

结果表明: 羟基红花黄色素 A 浓度在 0.016~0.080 mg·mL⁻¹ 范围内, 栀子苷浓度在 0.024~0.120 mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 取“2.1.1”项下对照品混合溶液, 在上述色谱条件下连续进样 6 次, 计算羟基红花

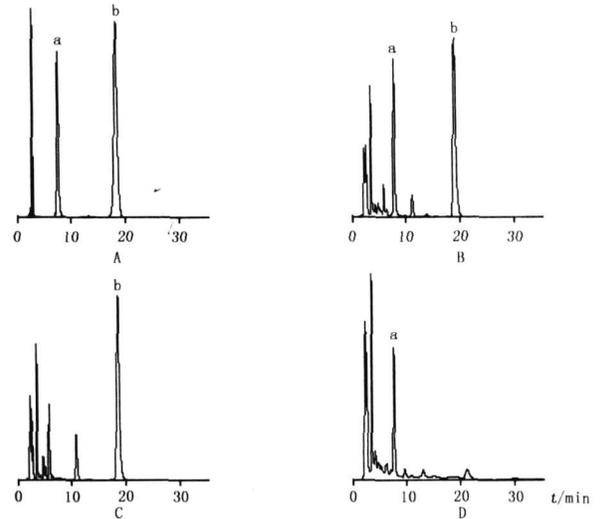


图 1 对照品 (A)、样品 (B)、不含红花阴性样品 (C)、不含栀子阴性样品 (D) HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), sample (B), negative sample without *Fructus Carthami* (C), and negative sample without *Fructus Gardeniae* (D)

a 羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A) b 栀子苷 (geniposide)

黄色素 A 与栀子苷色谱峰面积的 RSD ($n = 6$ 分别为 0.63% 和 0.54%。

2.5 重复性试验 取舒心通脑胶囊样品 (批号 20090402, 按“2.1.2”项下方法平行制备 5 份供试品溶液, 计算羟基红花黄色素 A 与栀子苷含量平均值 ($n = 5$ 分别为 9.78 mg·g⁻¹ 和 21.2 mg·g⁻¹; RSD 分别为 1.4% 和 1.0%。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0 2 4 6 8 h 进样, 测定峰面积。羟基红花黄色素 A 与栀子苷色谱峰面积的 RSD 分别为 0.92% 和 0.67%。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品 (批号 20090402 羟基红花黄色素 A 含量为 9.76 mg·g⁻¹, 栀子苷含量为 21.4 mg·g⁻¹ 0.05 g 共 5 份, 分别加入对照品羟基红花黄色素 A 0.5 mg 和栀子苷 1.0 mg 按“2.1.2”项下方法制备溶液, 进样测定, 计算平均回收率。结果平均回收率 ($n = 5$ 分别为 99.1% 和 100.0%, RSD 分别为 1.0% 和 1.5%。

2.8 样品测定 取 3 批舒心通脑胶囊 (批号: 20090402, 20090406, 20090409 各 5 份, 按“2.1.2”项下的方法处理后进样, 记录峰面积, 以外标法分别计算舒心通脑胶囊中羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量, 结果见表 1。

表 1 舒心通脑胶囊中羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量测定结果 ($n=5$)

Tab 1 The determination of samples

批号 (Lot No)	羟基红花黄色素 A (hydroxysafflor yellow A)		栀子苷 (geniposide)	
	含量	RSD	含量	RSD
	(content /mg·g ⁻¹)	(%)	(content /mg·g ⁻¹)	(%)
20090402	9.76	1.2	21.4	1.5
20090406	9.78	1.5	21.0	1.3
20090409	9.84	1.4	21.1	1.4

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的确定 羟基红花黄色素 A 受热不稳定, 故宜采用超声提取方法; 对不同提取时间 (20 30 40 min) 的考察结果表明, 超声 30 min 时提取效果最佳, 超声 40 min 时羟基红花黄色素 A 的含量有所下降。对不同提取溶剂 (甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇、25% 甲醇) 及其用量 (25 50 75 mL) 进行考察的结果表明以 25% 甲醇 25 mL 时提取效果好。

3.2 检测波长的选择 羟基红花黄色素 A 与栀子苷的紫外图谱显示, 栀子苷在 238 nm 处有最大吸收, 羟基红花黄色素 A 在 403 nm 处有最大吸收且在 230 nm 处有较强吸收, 为了同时测定羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量, 选择两者均有较强吸收的 230 nm 作为测定波长。

3.3 流动相的选择 根据文献^[5], 流动相曾采用甲醇-0.4% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 结果显示色谱峰拖尾严重, 分离效果差, 且流动相

pH 低, 影响色谱柱使用寿命; 也曾考察乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾-10% 四丁基氢氧化铵 (170: 800: 20), 此流动相平衡及冲洗色谱柱耗时较长, 不宜采用。本实验首次采用 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾-乙腈 (89: 11) 为流动相, 在 230 nm 处同时测定羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量, 效果良好。

3.4 小结 本实验采用高效液相色谱法同时测定舒心通脑胶囊中羟基红花黄色素 A 和栀子苷的含量, 方法简单快速, 重复性好, 准确度高, 可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 103
- 2 XIE Xu-e-jian(谢学建), ZHANG Jun-hui(张俊慧), MA A-i-hua(马爱华). Evolved investigation of Chinese traditional medicine-gardenoside(中药栀子研究进展). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(10): 943
- 3 ZHOU Hai(周海), MO Jing-chang(莫静嫦). Determination of geniposide in Wujiuzhilian tablet by HPLC(高效液相色谱法测定乌军治胆片中栀子苷的含量). *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2008, 14(10): 6
- 4 WANG Xiu-lan(王秀兰), TAI Wen-quan(邵文泉), WU Long-tang(吴龙堂). HPLC determination of gardenoside in Wuwei Fengshi capsules(高效液相色谱法测定五味风湿胶囊中栀子苷的含量). *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2007, 24(1): 59
- 5 YAO Yu-fa(姚育法), WU Yan-hong(吴燕红). Determination of hydroxysafflor yellow A in the Wuhu powder by HPLC(高效液相色谱法测定五虎散中羟基红花黄色素 A 的含量). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2008, 19(10): 2471

(本文于 2009 年 4 月 24 日收到)