

HPLC 法测定乐脉颗粒中羟基红花黄色素 A 的含量

孟 珺, 付春梅^{1*}, 刘丽娟, 乔瑞红 (北京大学深圳医院, 深圳 518036; ¹ 四川大学华西药学院)

摘要: 目的 建立测定乐脉颗粒中羟基红花黄色素 A 含量的高效液相色谱法。方法 采用迪马 Diamonsil C₁₈ 色谱柱, 甲醇-0.1% 磷酸 (30: 70) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 403 nm, 柱温: 35 °C。结果 羟基红花黄色素 A 在 0.0053~ 0.106 mg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好 ($r = 0.9998$)。乐脉颗粒的平均加样回收率为 99.5%, RSD = 1.8% ($n = 9$)。结论 该方法简便快速, 适用于乐脉颗粒中羟基红花黄色素 A 的含量测定。

关键词: HPLC; 乐脉颗粒; 羟基红花黄色素 A

中图分类号: R284.2; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2009) 03-0284-02

Determination of Hydroxysafflor Yellow A in Lemai Granules by HPLC

Meng Jun, Fu Chunmei¹, Liu Lijuan and Qiao Ruihong (Shenzhen Hospital Affiliated to Peking University, Shenzhen 518036; ¹West China School of Pharmacy Sichuan University)

ABSTRACT Objective To develop a method for the determination of hydroxysafflor yellow A in Lemai Granules by HPLC. **Methods** The column Dikma Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was methanol 0.1% phosphoric acid (30: 70) at flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ and the detection wavelength was set at 403 nm. The column temperature was 35 °C. **Results** The calibration curve was linear in the range of 0.0053~ 0.106 mg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), the average recovery was 99.5% with RSD = 1.8% ($n = 9$). **Conclusions** This method is simple, sensitive and suitable for the assay of hydroxysafflor yellow A in Lemai Granules.

KEY WORDS HPLC; Lemai Granules; hydroxysafflor yellow A

乐脉颗粒由丹参、川芎、芍药、木香等七味中药组成, 具有行气活血、化瘀通脉之功效, 用于气滞血瘀所致的头痛、眩晕、胸痛、心悸^[1]。红花是乐脉颗粒中的臣药, 具有活血通经、散瘀止痛的功效, 现代药理研究表明, 它对心血管系统有广泛而显著的作用, 其中查耳酮苷类化合物羟基红花黄色素 A 为其活血化瘀作用的主要有效成分^[2,4]。为了更好地控制药品质量, 本实验建立了乐脉颗粒中羟基红花黄色素 A 的 HPLC 测定方法, 为进一步完善其质量标准提供了参考依据。

1 仪器和试剂

日本岛津 LG-10A 高效液相色谱仪, SPD-10AV

紫外检测器, 杭州普惠 SEPU3000 色谱工作站。羟基红花黄色素 A 对照品 (中国药品生物制品检定所); 乐脉颗粒及原药材 (四川川大华西药业股份有限公司, 批号: 070504, 071115, 071123)。甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱: 迪马 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 自填国产 YWG C₁₈ (4.6 mm × 10 mm, 5 μm) 作保护柱。流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (30: 70), 检测波长: 403 nm, 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 柱温: 35 °C。

作者简介: 孟珺, 副主任药师; 研究方向: 临床药理; Tel: (0755) 83923333; E-mail: qzjmj@163.com

通讯作者: 付春梅, 硕士研究生; 研究方向: 药物分析; E-mail: fcm213@sina.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品储备液

取羟基红花黄色素 A 对照品约 5mg, 精密称定, 置 50mL 量瓶中, 用 25% 甲醇溶解稀释至刻度, 摇匀, 得羟基红花黄色素 A 对照品储备液, 备用。

2.2.2 供试品溶液

精密称取乐脉颗粒 0.5g, 置 25mL 容量瓶中, 加水适量, 振摇使溶解, 用水稀释定容, 摇匀, 用 0.45 μ m 滤膜过滤, 取续滤液作为供试液。

2.2.3 阴性对照溶液

称取处方药材 (缺红花), 按《中国药典》乐脉颗粒制备方法制备, 按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性范围

精密量取羟基红花黄色素 A 对照品储备液 (浓度: 0.106mg · mL⁻¹) 适量, 配制系列浓度对照品溶液, 分别进样 20 μ L, 以峰面积对浓度进行回归分析, 回归方程:

$$Y = 2.1778 \times 10^4 X - 4.201 \times 10 \quad r = 0.9998$$

羟基红花黄色素 A 在 0.0053~0.053mg · mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系。

2.4 回收率试验

精密称取已知含量的样品 (071120 批, 含羟基红花黄色素 A 以 1.202mg · g⁻¹ 计) 9 份, 分别加入一定量的羟基红花黄色素 A 对照品, 按“2.2”项下方法制成低、中、高 3 个浓度溶液各 3 份测定, 结果见表 1。测得平均加样回收率分别为 99.5%, RSD = 1.8% (n = 9)。

表 1 回收率试验结果

样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.150	0.159	0.3061	98.2		
0.151	0.159	0.3048	96.7		
0.149	0.159	0.3061	98.8		
0.304	0.318	0.6153	97.9		
0.299	0.318	0.6157	99.6	99.5	1.8
0.302	0.318	0.6194	99.8		
0.595	0.318	0.9184	101.7		
0.605	0.318	0.9249	100.6		
0.609	0.318	0.9337	102.1		

2.5 重现性试验

取同一批样品 (批号: 071120), 按“2.2.2”项方法分别制备供试品溶液 6 份。按上述色谱条件测定, 羟基红花黄色素 A 的平均含量为 1.202mg · g⁻¹。

RSD = 1.5%。

2.6 精密度试验

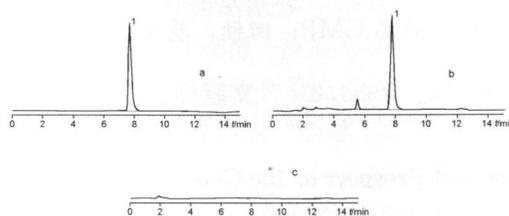
取同一样品溶液连续测定 6 次, 峰面积的 RSD = 0.4%。

2.7 稳定性试验

样品溶液在配制后 12h 内测定, 含量基本一致, RSD = 0.4%; 对照品溶液在冰箱中贮存一周, 浓度基本不变。

2.8 样品的含量测定

取 3 批样品按供试品溶液制备方法, 依法操作, 结果见图 1、表 2。



a. 对照品; b. 供试品; c. 阴性对照; 1. 羟基红花黄色素 A。

图 1 乐脉颗粒 HPLC 色谱图

表 2 乐脉颗粒样品的含量测定结果 (n = 3)

批号	含量 (mg · g ⁻¹)	平均含量 (mg · g ⁻¹)	RSD (%)
070504	1.238, 1.265, 1.252	1.252	1.1
071115	0.833, 0.813, 0.821	0.822	1.2
071123	1.458, 1.495, 1.483	1.479	1.3

3 讨论

在预实验中对流动相进行了筛选, 最后由实验结果确定采用甲醇-0.1% 磷酸溶液 (30 : 70) 作为流动相系统, 在此条件下羟基红花黄色素 A 的保留适中, 峰形对称, 处方中其它成分不干扰测定。本方法简便准确, 重复性好, 可用于乐脉颗粒中羟基红花黄色素 A 的含量测定。

参考文献:

[1] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 426-426
 [2] 连泽勤, 赵大龙, 朱海波. 羟基红花黄色素 A 上调低氧状态下血管内皮细胞中缺氧诱导因子-1 α 的表达 [J]. 药学学报, 2008, 43 (5): 484-489
 [3] 赵明波, 邓秀兰, 王亚玲, 等. 高效液相色谱法测定红花中的羟基红花黄色素 A [J]. 色谱, 2003, 21 (6): 593-595
 [4] 王天, 傅风华, 韩冰, 等. 羟基红花黄色素 A 对实验性心肌梗死大鼠的保护作用及机制 [J]. 中草药, 2007, 38 (12): 1853-1856