

UPLC-MS/MS 同时测定谷红注射液中 7 种有效成分

李宵, 吴茵, 支旭然, 李倩, 李颖, 王祁民, 董占军*
(河北省人民医院, 石家庄 050051)

[摘要] **目的:**建立同时测定谷红注射液中乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 芦丁, 紫丁香苷, 山柰素, 山柰酚, 槲皮素含量的方法。**方法:**采用超高效液相色谱-串联质谱法。Phenomenex Kinetex C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速 0.5 mL·min⁻¹; 质谱采用正负离子同时监测, 多反应监测模式(MRM), 进样量 5 μL。**结果:**谷红注射液中乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 芦丁, 紫丁香苷, 山柰素, 山柰酚, 槲皮素质量浓度线性范围分别在 10.36~663.0, 0.500 0~32.00, 0.047 8~3.059, 0.200 0~12.80, 0.032 4~2.074, 0.675 0~43.20, 0.142 5~9.120 μg·L⁻¹ 线性关系良好; 平均加样回收率分别为 97.0%~99.2%, RSD < 3.4% (n = 6); 7 种成分在 3 批样品中的质量浓度依次为乙酰谷酰胺 28.5~32.4 g·L⁻¹, 羟基红花黄色素 A 1.02~1.23 g·L⁻¹, 芦丁 14.3~17.6 mg·L⁻¹, 紫丁香苷 101~123 mg·L⁻¹, 山柰素 12.1~14.9 μg·L⁻¹, 山柰酚 0.138~0.155 mg·L⁻¹, 槲皮素 73.4~95.6 μg·L⁻¹。**结论:**该方法简、快速、高效、准确、可靠, 适用于同时测定乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 芦丁, 紫丁香苷, 山柰素, 山柰酚, 槲皮素 7 种有效成分, 为该制剂建立更全面的质量控制方法提供依据。

[关键词] 谷红注射液; 乙酰谷酰胺; 羟基红花黄色素 A; 芦丁; 紫丁香苷; 山柰素; 山柰酚; 槲皮素

[中图分类号] R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)21-0064-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017210064

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1123.018.html>

[网络出版时间] 2017-08-09 11:23

Simultaneous Determination of Seven Active Components in Guhong Injection

LI Xiao, WU Yin, ZHI Xu-ran, LI Qian, LI Ying, WANG Qi-min, DONG Zhan-jun*
(Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the content determination of aceglutamide, hydroxysafflower yellow A, rutin, syringing, kaempferide, kaempferol and quercetin in Guhong injection. **Method:** UPLC-MS/MS was conducted. The column of UPLC was Phenomenex Kenetix C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 5 μm), with mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution) at a flow of 0.5 mL·min⁻¹. The multiple reaction monitoring mode (MRM) was adopted with simultaneous monitoring of positive and negative ions and, the injection volume was 5 μL. **Result:** The linear range was 10.36-663.0 μg·L⁻¹ for aceglutamide, 0.500 0-32.00 μg·L⁻¹ for hydroxysafflower yellow A, 0.047 8-3.059 μg·L⁻¹ for rutin, 0.200 0-12.80 μg·L⁻¹ for syringing, 0.032 4-2.074 μg·L⁻¹ for kaempferide, 0.675 0-43.20 μg·L⁻¹ for kaempferol, and 0.142 5-9.120 μg·L⁻¹ for quercetin. The recoveries were between 97.0% and 99.2% (RSD ≤ 3.4%, n = 6). The contents of aceglutamide, hydroxysafflower yellow A, rutin, syringing, kaempferide, kaempferol, quercetin in the three batches of samples ranged between 28.5-32.4 g·L⁻¹, 1.02-1.23 g·L⁻¹, 14.3-17.6 mg·L⁻¹, 101-123 mg·L⁻¹, 12.1-14.9 μg·L⁻¹, 0.138-0.155 mg·L⁻¹, 73.4-95.6 μg·L⁻¹. **Conclusion:** The method is convenient, rapid, effective, simple, accurate, reliable and suitable for the simultaneous determination for 7 ingredients in Guhong injection and offers a basis for establishing a more comprehensive quantity control method.

[收稿日期] 20170323(007)

[基金项目] 河北省卫生厅青年科技课题项目(ZL20140340);河北省中医药管理局指导性项目(2014152)

[第一作者] 李宵, 硕士, 从事中药注射液质量控制研究, Tel: 0311-8598998, E-mail: 379346168@qq.com

[通讯作者] *董占军, 博士, 主任药师, 从事中药理论及医院药事管理, Tel: 0311-85988604, E-mail: 13313213656@126.com

[Key words] Guhong injection; aceglutamide; hydroxysafflower yellow A; rutin; syringing; kaempferide; kaempferol; quercetin

谷红注射液是由乙酰谷酰胺与红花提取液组成的独家中西药复方制剂,现行标准为国家食品药品监督管理局《国家药品标准》(试行)WS-10001-(HD-1506)-2004,临床上作为脑代谢功能促进剂广泛应用于缺血性心脑血管疾病且疗效确切^[1-2]。红花提取液中主要有效成分为黄酮类、核苷类、木脂素类等化合物^[3],已有研究建立了 HPLC 同时测定谷红注射液中 4 种核苷类成分含量的方法,而对其黄酮类成分的测定较单一,仅限于羟基红花黄色素 A^[4-5],其质量标准是将乙酰谷酰胺与羟基红花黄色素 A 分别用 HPLC 定量测定,2015 年版《中国药典》采用 HPLC 将 2 种黄酮化合物羟基红花黄色素 A 与山柰素作为红花的含量测定指标成分,分析成分少且分析周期长,质量控制不全面。

本文建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定谷红注射液中的乙酰谷酰胺,羟基红花黄色素 A,芦丁,紫丁香苷,山柰素,山柰酚,槲皮素 7 种有效成分的含量,为 5 种黄酮类成分,1 种主要化学成分,1 种苯丙醇苷类化合物,较全面地对其中黄酮类成分进行质量控制。该方法大大缩短了分析时间,提高了分析效率,拓宽了该制剂含量测定领域,为谷红注射液多组分的定量分析提供了新的参考依据。

1 材料

LC-30AD 型超高效液相色谱系统(日本岛津公司),Triple Quad 5500 型三重四级杆串联质谱仪(美国 AB Sciex 公司),AB204-S 标准型 1/1 万分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),KQ3200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),XW-80A 型旋涡混

合器(上海精科实业有限公司)。

对照品乙酰谷酰胺,槲皮素,芦丁(批号分别为 10089-201402,10081-200406,110809-200503,中国食品药品检定研究院),羟基红花黄色素 A(批号 Z01015BB14,上海源叶生物科技有限公司),山柰素,山柰酚,紫丁香苷(批号分别为 SNS20150707,SNF20141209,ZDFG20150709,南京生物科技有限公司,以上对照品纯度均 ≥ 98%。乙腈为色谱纯(Fisher 公司),水为娃哈哈纯净水,甲酸为色谱纯(Fisher 公司)。谷红注射液(5 mL/支,批号分别为 20151208, 20151212, 20151214, 20161120, 20161122, 20161124, 20161208, 20161212, 20161214,20161218),通化谷红制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 UPLC-MS/MS 条件

2.1.1 色谱条件 Phenomenex Kinetex C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 5 μm),柱温 20 °C,流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B)溶液,梯度洗脱(0 ~ 3 min, 2% ~ 30% A; 3 ~ 7.5 min, 30% ~ 95% A),流速设定 0.5 mL·min⁻¹,进样量 5 μL,进样前平衡 4 min。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI 源),离子源温度 600 °C,正、负离子同时监测模式,Turbo V 离子源。源喷射电压(IS)为 5 500, - 4 500 V,雾化气(gas 1)为 414 kPa,加热气(gas 2)为 448 kPa,帘气(CUR)为 172 kPa,工作模式为正负离子同时检查,多反应监测模式(MRM)。紫丁香苷采用正离子模式(ESI⁺)监测,乙酰谷酰胺,羟基红花黄色素 A,山柰素,山柰酚,槲皮素,芦丁采用负离子模式(ESI⁻)监测。各成分的主要质谱分析参数见表 1。

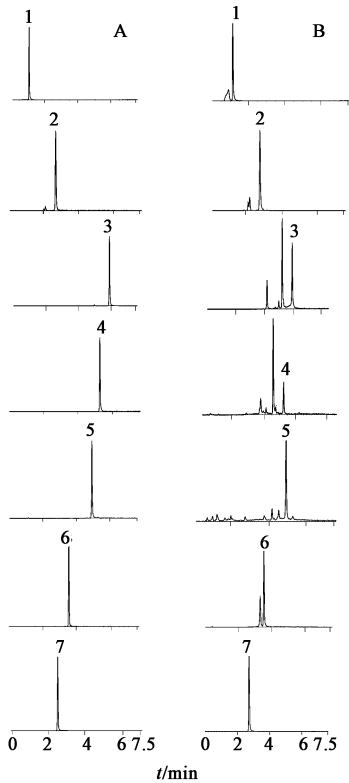
表 1 7 种成分主要质谱分析参数

Table 1 Retention time and main mass parameters of 7 constituents

成分	分子式	t/min	电离模式	离子对(m/z)	解簇电压/V	碰撞能/eV
紫丁香苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	2.72	[M + H] ⁺	395.3/232.2	123	32
乙酰谷酰胺	C ₇ H ₁₂ N ₂ O ₄	1.13	[M - H] ⁻	186.9/144.8	-80	-19
羟基红花黄色素 A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	2.73	[M - H] ⁻	611.3/491.2	-100	-37
山柰素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	5.91	[M - H] ⁻	299.1/283.9	-90	-30
山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	5.26	[M - H] ⁻	285.0/117.0	-120	-51
槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	4.90	[M - H] ⁻	301.1/150.9	-45	-29
芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	3.51	[M - H] ⁻	609.2/300.1	-200	-49

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 山柰素, 山柰酚, 槲皮素, 芦丁, 紫丁香苷对照品适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度线, 摇匀, 即得混合对照品储备液。精密吸取各对照品储备液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度线, 摇匀, 即得含乙酰谷酰胺 $663.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 羟基红花黄色素 A $32.00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 山柰素 $2.074 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 山柰酚 $43.20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 槲皮素 $9.120 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 芦丁 $3.059 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 紫丁香苷 $12.80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 用 50% 甲醇逐级稀释为系列质量浓度的混合对照品溶液, 置于冰箱 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存备用。对照品的离子色谱见图 1。

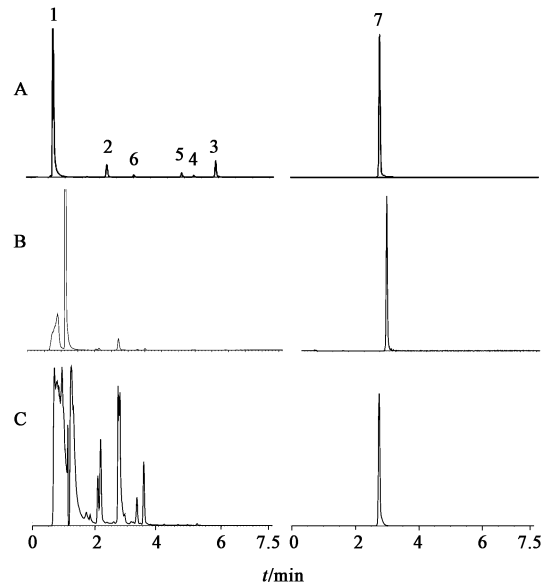


A. 对照品; B. 供试品; 1. 乙酰谷酰胺; 2. 羟基红花黄色素 A; 3. 山柰素; 4. 山柰酚; 5. 槲皮素; 6. 芦丁; 7. 紫丁香苷

图 1 谷红注射液离子流色谱
Fig. 1 Representative extract ions chromatograms of Guhong injection sample

2.2.2 供试品溶液的制备 分别精密吸取 3 批不同批号的谷红注射液 5 mL 置于 50 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 用 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得稀释 10 倍的谷红注射液, 将稀释后的谷红注射液继续用 50% 甲醇稀释得稀释 100 倍的谷红注射液与稀释 10 万倍的谷红注射液, 稀释 100 倍的谷红

注射液用于化合物山柰酚、山柰素、槲皮素的测定, 稀释 10 万倍的谷红注射液用于化合物乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 芦丁, 紫丁香苷的测定。总离子流(TIC)色谱见图 2。



A. 对照品; B. 稀释 10 万倍谷红注射液; C. 稀释 100 倍谷红注射液; 1. 乙酰谷酰胺; 2. 羟基红花黄色素 A; 3. 山柰素; 4. 山柰酚; 5. 槲皮素; 6. 芦丁; 7. 紫丁香苷

图 2 对照品和谷红注射液供试品总离子流色谱
Fig. 2 Representative total ions chromatograms of standard solution and Guhong injection sample

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 将 2.2.1 项下系列质量浓度混合对照品溶液按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析, 结果以对照品进样质量浓度为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程乙酰谷酰胺 $Y = 1.69 \times 10^3 X + 6.86 \times 10^6$, $r = 0.9994$; 羟基红花黄色素 A $Y = 4.46 \times 10^4 X - 753$, $r = 0.9993$; 芦丁 $Y = 5.4 \times 10^3 X + 1.34 \times 10^4$, $r = 0.9994$; 紫丁香苷 $Y = 1.33 \times 10^4 X + 7.2 \times 10^3$, $r = 0.9991$; 山柰素 $Y = 4.71 \times 10^5 X + 2.27 \times 10^3$, $r = 0.9997$; 山柰酚 $Y = 1.34 \times 10^4 X - 98.3$, $r = 0.9992$; 槲皮素 $Y = 9.54 \times 10^4 X + 1.6 \times 10^3$, $r = 0.9988$; 各成分线性范围分别为 $10.36 \sim 663.0$, $0.5000 \sim 32.00$, $0.0478 \sim 3.059$, $0.2000 \sim 12.80$, $0.0324 \sim 2.074$, $0.6750 \sim 43.20$, $0.1425 \sim 9.120 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3.2 定量限与检测限考察 将混合对照品溶液逐步稀释, 以信噪比 $S/N = 3$ 时的对照品质量浓度作为检测限 (LOD), 以信噪比 $S/N = 10$ 时的对照品质量浓度作为最低定量限 (LOQ), 结果乙酰谷酰胺 LOD 为 $0.12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 羟基红花

黄色素 A LOD 为 $0.023 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.23 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 芦丁 LOD 为 $0.005 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 紫丁香苷 LOD 为 $0.18 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.35 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 山柰素 LOD 为 $0.015 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.03 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 山柰酚 LOD 为 $0.14 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 槲皮素 LOD 为 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, LOQ 为 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3.3 精密度考察 取混合对照品溶液,按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件重复进样 6 次,记录 7 种成分的色谱峰面积,得乙酰谷酰胺,羟基红花黄色素 A,芦丁,紫丁香苷,山柰素,山柰酚、槲皮素的峰面积的 RSD 分别为 2.0%, 0.8%, 2.8%, 2.0%, 1.5%, 2.7%, 3.8%。

2.3.4 稳定性考察 取同批谷红注射液(批号 20151212)稀释 100 倍的供试品溶液与稀释 10 000 倍的供试品溶液,分别于室温放置 0,2,4,8,12,24 h 按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析,记录 7 种成分的色谱峰面积。得乙酰谷酰胺,羟基红花黄色

素 A,芦丁,紫丁香苷,山柰素,山柰酚,槲皮素的峰面积的 RSD 分别为 2.0%, 0.9%, 5.8%, 4.3%, 2.6%, 4.1%, 4.7%。

2.3.5 重复性考察 取同批谷红注射液(批号 20151212),按 2.2.2 项下制得稀释 100 倍的供试品溶液与稀释 10 万倍的供试品溶液,各 6 份,分别按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析,记录 7 种成分的色谱峰面积,计算含量。得乙酰谷酰胺,羟基红花黄色素 A,芦丁,紫丁香苷,山柰素,山柰酚,槲皮素的平均质量分数分别为 309.0, 11.40, 0.155 0, 1.200, 0.133 0, 1.400, 0.923 0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, RSD 分别为 2.9%, 3.0%, 2.2%, 1.7%, 2.7%, 1.8%, 2.9%。

2.3.6 加样回收率考察 精密吸取谷红注射液 0.5 mL,共 6 份,分别加入混合对照品溶液 0.5 mL,涡旋混匀,分别按 2.2.2 项下制得稀释 100 倍的供试品溶液与稀释 10 万倍的供试品溶液,按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析,计算 7 种成分的平均回收率,结果见表 2。

表 2 谷红注射液中 7 种成分的加样回收率测定

Table 2 Results of recovery of 7 constituents in Guhong injection

成分	样品中量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
乙酰谷酰胺	1.55×10^4	1.50×10^4	2.99×10^4	95.9	97.0	1.2
	1.55×10^4	1.50×10^4	3.04×10^4	99.0		
	1.55×10^4	1.50×10^4	3.01×10^4	97.2		
	1.55×10^4	1.50×10^4	2.99×10^4	96.0		
	1.55×10^4	1.50×10^4	3.00×10^4	96.7		
	1.55×10^4	1.50×10^4	3.00×10^4	97.1		
羟基红花黄色素 A	5.65×10^2	5.60×10^2	1.13×10^3	101.2	99.5	2.4
	5.65×10^2	5.60×10^2	1.11×10^3	97.6		
	5.65×10^2	5.60×10^2	1.14×10^3	102.1		
	5.65×10^2	5.60×10^2	1.11×10^3	96.7		
	5.65×10^2	5.60×10^2	1.14×10^3	97.9		
	5.65×10^2	5.60×10^2	1.13×10^3	101.5		
山柰素	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.37×10^{-2}	96.5	99.2	2.9
	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.40×10^{-2}	100.7		
	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.36×10^{-2}	96.3		
	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.37×10^{-2}	97.2		
	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.40×10^{-2}	101.8		
	6.90×10^{-3}	7.00×10^{-3}	1.36×10^{-2}	102.5		
山柰酚	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.49×10^{-1}	99.4	98.5	1.3
	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.48×10^{-1}	98.2		
	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.48×10^{-1}	98.0		
	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.47×10^{-1}	97.0		

续表 2

成分	样品中量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
槲皮素	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.50×10^{-1}	100.5	98.4	1.3
	7.45×10^{-2}	7.50×10^{-2}	1.48×10^{-1}	98.2		
	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.64×10^{-3}	97.3		
	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.62×10^{-3}	96.8		
	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.72×10^{-3}	98.9		
	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.71×10^{-3}	98.7		
	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.81×10^{-3}	100.5		
芦丁	4.78×10^{-3}	5.00×10^{-3}	9.68×10^{-3}	98.0	97.0	1.3
	8.20	8.00	16.1	98.1		
	8.20	8.00	15.9	96.3		
	8.20	8.00	16.0	97.1		
	8.20	8.00	16.1	98.2		
	8.20	8.00	15.8	95.0		
	8.20	8.00	16.1	98.1		
紫丁香苷	57.0	60.0	1.14×10^2	95.3	98.4	3.4
	57.0	60.0	1.18×10^2	101.7		
	57.0	60.0	1.19×10^2	103.9		
	57.0	60.0	1.15×10^2	97.2		
	57.0	60.0	1.58×10^2	98.0		
	57.0	60.0	1.46×10^2	96.3		
	57.0	60.0	1.46×10^2	96.3		

2.4 样品测定 取 10 批不同批次的谷红注射液,分别按 2.2.2 项下制得稀释 100 倍的供试品溶液与稀

释 10 万倍的供试品溶液,按 2.1 项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析,计算 7 种成分的含量,结果见表 3。

表 3 谷红注射液样品中 7 种成分的质量分数测定

Table 3 Results of 7 constituent determination of Guhong injection

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

批号	乙酰谷酰胺	羟基红花黄色素 A	芦丁	紫丁香苷	山柰素	山柰酚	槲皮素
20151208	3.11×10^4	1.13×10^3	16.4	114	0.013 8	0.149	0.095 6
20151212	3.17×10^4	1.12×10^3	15.9	123	0.013 7	0.140	0.094 3
20151214	3.16×10^4	1.16×10^3	17.6	113	0.013 2	0.153	0.088 3
20161120	3.09×10^4	1.02×10^3	15.1	101	0.014 4	0.139	0.074 6
20161122	2.97×10^4	1.19×10^3	16.8	114	0.013 9	0.150	0.075 9
20161124	3.19×10^4	1.23×10^3	14.3	109	0.014 9	0.138	0.084 9
20161208	2.85×10^4	1.14×10^3	15.9	121	0.012 8	0.142	0.095 6
20161212	3.06×10^4	1.07×10^3	15.4	102	0.013 7	0.155	0.089 1
20161214	3.24×10^4	1.06×10^3	17.0	109	0.012 1	0.139	0.075 9
20161218	3.11×10^4	1.18×10^3	14.8	117	0.014 7	0.142	0.073 4

3 讨论

3.1 测定成分的选择 本实验同时测定谷红注射液的主药乙酰谷酰胺及红花提取液中的黄酮类成分与苯丙醇苷类成分,其中黄酮类成分包括黄酮醇类

化合物山柰酚、山柰素、槲皮素,具有降血脂、抗癌的功效^[6];黄酮醇苷化合物芦丁,具有抗炎抗病毒的功效;查尔酮类化合物羟基红花黄色素 A,具有活血化瘀、抗氧化、改善大脑认知功能和减少脑部栓塞

区域的功效^[7]; 苯丙醇苷类成分为紫丁香苷, 具有降血糖等功效^[8]。最初通过高效液相采用双波长法仅检测出乙酰谷酰胺、紫丁香苷、腺苷、羟基红花黄色素 A 4 种有效成分, 故建立该 LC-MS/MS 实现对谷红注射液中乙酰谷酰胺, 5 种黄酮类成分与 1 种苯丙醇类成分共 7 种有效成分的同时测定, 比 HPLC 方法更快速、高效、精确、全面, 且能较全面有效对谷红注射液质量控制。

3.2 离子化模式的选择 本实验中紫丁香苷在正离子模式下响应值较好, 乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 山柰素, 山柰酚, 槲皮素, 芦丁在负离子模式下响应值较好, 采用正负离子同时监测模式, 使同一分析周期同时测定 7 种成分, 分析时间大大缩短, 提高分析效率。

3.3 流动相的选择 本实验最初使用甲醇-0.1% 甲酸水作为流动相, 峰形较宽, 改用乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相, 得到的峰形较好, 响应值稳定且能使 7 种被测成分达到最佳分离效果, 故选乙腈-0.1% 甲酸水为流动相进行梯度洗脱, 分析时间 7.5 min, 得到结果准确、快捷。

3.4 样品的处理 因乙酰谷酰胺, 羟基红花黄色素 A, 芦丁, 紫丁香苷响应值较大, 故在稀释 1 万倍时进行测定, 山柰素、山柰酚、槲皮素响应值较小, 故在稀释 100 倍时进行测定, 以使测定结果更为精准可靠。

[参考文献]

[1] ZHOU X D, TANG L Y, XU Y L, et al. Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius*

L. in traditional Chinese medicine: a phytochemical and pharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 21-43.

- [2] 舒明春, 万海同, 周惠芬, 等. 谷红注射液抗脑缺血性再灌注损伤的作用及其机制 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(24): 4829-4833.
- [3] 何昱, 周惠芬, 黄丽娜, 等. HPLC-DAD 法同时测定谷红注射液中 7 个组分的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(6): 954-959.
- [4] 罗亦琨, 郑艳秋, 何昱. 谷红注射液中总多酚的含量测定 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2014, 38(7): 889-893.
- [5] FAN L, ZHAO H Y, XU M, et al. Qualitative evaluation and quantitative determination of 10 major active components in *Carthamus tinctorius* L. by high-performance liquid chromatograph coupled with diode array detector [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 12(16): 2063-2070.
- [6] 周莹. HPLC-ESI-MSⁿ 快速鉴定植物中活性成分 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2015.
- [7] PAN Y, ZHENG D Y, LIU S M, et al. Hydroxysafflor yellow A attenuates lymphostatic encephalopathy-induced brain injury in rats [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(10): 1500-1506.
- [8] NIU H S, Hsu F L, Liuc I M. Role of sympathetic tone in the loss of syringin-induced plasma glucose lowering action in conscious wistar rats [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 445(1): 113-116.

[责任编辑 顾雪竹]