

# HPLC 测定蛭芎活血丸中山柰素的含量

孟建升<sup>1\*</sup>, 蒋俊春<sup>1</sup>, 周晓<sup>2</sup>

(1. 商丘市食品药品监督管理局, 河南 商丘 476000; 2. 永城市食品药品监督管理局, 河南 永城 476600)

[摘要] 目的:建立 HPLC 测定蛭芎活血丸中山柰素含量的方法。方法:采用 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱, 甲醇-水(52:48)为流动相;流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长 367 nm。结果:山柰素在 2.148~21.48 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好( $r=0.9999$ ), 平均回收率为 99.08%, RSD 0.47% ( $n=6$ )。结论:方法操作简便, 专属性强, 结果准确, 可用于蛭芎活血丸的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱; 蛭芎活血丸; 山柰素; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)20-0109-02

## HPLC Determination of Kaempferol in Zhixionghuoxie Pills

MENG Jian-sheng<sup>1\*</sup>, JIANG Jun-chun<sup>1</sup>, ZHOU Xiao<sup>2</sup>

(1. Shangqiu Institute for Food and Drug Control, Shangqiu 476000, China;

2. Yongcheng Institute for Food and Drug Control, Yongcheng 476600, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for the determination of kaempferol in Zhixionghuoxie Pills. **Method:** The chromatographic system was consisted of C<sub>18</sub> column with methanol-water (52:48) as mobile phase. The content was detected at a waveleng of 367 nm; the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** The kaempferol was linear in the range of 2.148-21.48 μg·min<sup>-1</sup> ( $r=0.9999$ ); the average recovery was 99.08% and RSD 0.47% ( $n=6$ ). **Conolusion:** The established method is accuracy, sensitive and simple. It can be used for quality control of Zhixionghuoxie Pills.

[Key words] HPLC; Zhixionghuoxue pills; kaempferol; determination

蛭芎活血丸是由红花、川芎、水蛭加工制成的医院制剂,具有活血通络、散瘀止痛的功效。用于瘀血阻滞引起的中风、半身不遂、胸痹心痛及脑梗塞,心肌梗塞、脑缺血发作,脑动脉硬化,冠心病,脉管炎等。现行质量标准中未收载含量测定项目不能有效的控制药品质量<sup>[1]</sup>。红花为方中主药,山柰素是红花的主要有效成分之一<sup>[2]</sup>。本文以山柰素为指标成分,建立了蛭芎活血丸中山柰素的高效液相测定法,为该制剂的质量控制提供了客观的含量评价方法。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, AYW-220D

型电子分析天平, JL-180DT 型超声波清洗器(上海金棋实业公司)

山柰素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110861-200808); 甲醇为色谱纯(批号 800612101 天津市四友精细化学品有限公司), 盐酸分析纯(批号 20090416 中国宿州化学试剂有限公司), 水为重蒸馏水。蛭芎活血丸由柘城县人民医院提供(批号 090512, 090802, 091106)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(52:48)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 367 nm, 进样量 10 μL, 理论板数不低于 3 000。

**2.2 线性关系考察** 取山柰素对照品约 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加甲醇适量, 振摇使完全溶解后, 稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1, 2, 3, 5, 8,

[收稿日期] 20100718(004)

[通讯作者] \* 孟建升, 本科, 主管药师, 从事中药有效成分和质量标准研究, 13849666275, E-mail: mengjiansheng139@tom.com, 18258284@qq.com

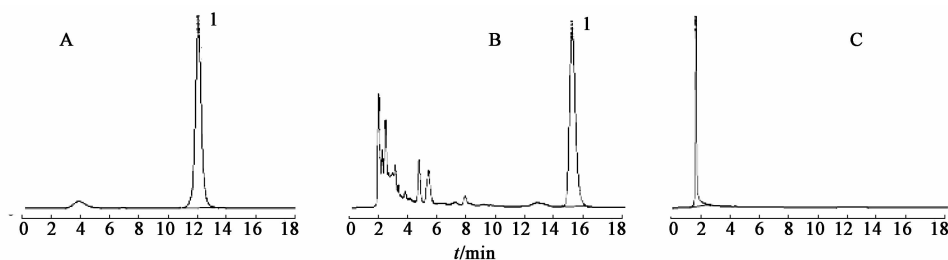
10 mL,置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。按照 2.1 项 色谱条件,分别进样 10 μL,记录山柰素峰面积值,以峰面积积分值(Y)对对照品浓度(X)进行线性回归,得回归方程  $Y = 3\,216.82X + 0.64$  ( $r = 0.999\,9$ )。结果表明,山柰素对照品浓度在 2.148 ~ 21.48 mg·L<sup>-1</sup>与峰面积值呈良好的线性关系。

**2.3 对照品溶液的制备** 取山柰素对照品约 10 mg,精密称定,置 100 mL 棕色量瓶中,加甲醇适量,振摇使完全溶解后,稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液,精密量取 10 mL,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

**2.4 供试品溶液及阴性对照溶液的制备**<sup>[3]</sup> 取

本品约 1.0 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 15 mL,置锥形瓶中,加盐酸溶液(15 ~ 37)5 mL,摇匀,置水浴中加热水解 30 min,立即冷却,转移至 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。另取缺红花的其他味药按处方工艺制成阴性制剂,按上述方法制备阴性对照溶液。

**2.5 干扰试验** 取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL,按照 2.1 项 色谱条件,分别进样测定,记录色谱图,结果见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性;1. 山柰素

图 1 蛭毒活血丸高效液相色谱

**2.6 精密度试验** 取同一对照品溶液,重复进样 5 次,每次 10 μL,记录峰面积,RSD 0.87% ( $n = 5$ ),表明精密度良好。

**2.7 重复性试验** 称取样品 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液,进样 10 μL,记录峰面积,计算含量,RSD 0.63% ( $n = 5$ )。

**2.8 稳定性试验** 取同一对照品溶液,分别在 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h 进样测定,RSD 0.93%,供试品溶液在 6 h 内峰面积基本稳定。

**2.9 加样回收率试验** 称取 6 份已知含量为 0.336 0 mg·g<sup>-1</sup>的样品约 0.6 g,精密称定,分别置 1 ~ 6 号锥形瓶中,分别精密加入对照品储备液 2 mL,按照 2.4 项下供试品溶液制备方法制备溶液,按照 2.1 项 色谱条件,分别测定,结果见表 1。

**2.10 样品测定** 取 3 批样品,按 2.4 项下方法制备供试液,各进样 10 μL,按外标法计算,3 批样品中山柰素的质量分数分别为 0.341 2, 0.336 0, 0.342 6 mg·g<sup>-1</sup>。

### 3 讨论

本方法操作简便,具有较强的专属性,回收率高,能够更有效的控制该制剂质量的质量。

表 1 山柰素加样回收率试验

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.589 6	0.198 1	0.214 8	0.411 3	99.26		
0.596 3	0.200 4	0.214 8	0.413 7	99.32		
0.601 8	0.202 2	0.214 8	0.414 0	98.62	99.08	0.47
0.602 8	0.202 5	0.214 8	0.415 8	99.32		
0.598 6	0.201 1	0.214 8	0.412 4	98.38		
0.612 6	0.205 8	0.214 8	0.419 6	99.56		

### [参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2005:103.  
 [2] 付辉政,万凯化,罗跃华. RP-HPLC 法测定肤痒片中山柰素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):9.

[责任编辑 蔡仲德]