

# 高效液相色谱法测定红花散瘀胶囊中 羟基红花黄色素 A 的含量

王永新<sup>1\*</sup>, 徐 荣<sup>2</sup>, 白 霜<sup>1</sup>

(1. 空军航空医学研究所, 北京 100036; 2. 空军总医院, 北京 100036)

**[摘要]** 目的: 对红花散瘀胶囊中羟基红花黄色素 A 进行含量测定。方法: 高效液相色谱法, 样品用 25% 甲醇超声提取; ODS 柱; 以甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液(26: 2: 72) 为流动相; 检测波长 403 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C。结果: 羟基红花黄色素 A 获良好分离, 在 0.16~ 1.60 μg 范围内呈现良好的线性关系( $r = 0.9999$ ), 平均加样回收率为 99.45%, RSD 为 2.10%。结论: 本法简单、准确、重复性好, 可用于红花散瘀胶囊中羟基红花黄色素 A 含量测定。

**[关键词]** 红花散瘀胶囊; 红花; 羟基红花黄色素 A; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)01-0012-02

红花散瘀胶囊是由红花、三七等数味中药组成, 临床上用于治疗跌打损伤。方中红花为君药, 具有活血通经, 散瘀止痛的功效<sup>[1]</sup>, 其主要成分为羟基红花黄色素 A。本实验采用高效液相色谱法测定红花散瘀胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量, 作为该制剂的质量控制方法。

## 1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1316A 柱温箱, G1314A UV-VIS 检测器, TL9000(金羊) 色谱工作站。

KQ-100 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。甲醇、乙腈为 HPLC 级, 高纯水。

红花散瘀胶囊为本实验室自制。羟基红花黄色素 A 对照品(Hydroxysafflor yellow A, 中国药品生物制品检定所, 批号: 111637-200502)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: BDS HYPERSIL C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液(26: 2: 72); 检测波长 403 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C。羟基红花黄色素 A 与相邻的色谱峰分离度大于 1.5, 按羟基红花黄色素 A 峰计算, 理论塔板数不低于 3 000。同时取缺红花的阴性供试品进样,

[收稿日期] 2006-07-05

[通讯作者] \* 王永新, Tel: (010) 68426585

结果表明, 阴性供试品在羟基红花黄色素 A 峰处无干扰。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的羟基红花黄色素 A 对照品适量, 加 25% 甲醇制成每 1 mL 含 80  $\mu\text{g}$  的溶液, 为对照品溶液。

**2.3 精密度实验** 取对照品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10  $\mu\text{L}$ , 测定羟基红花黄色素 A 峰面积, RSD 为 0.73%, 表明精密度良好。

**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取对照品溶液 2, 6, 10, 14, 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以进样量为横坐标( $X$ ), 峰面积为纵坐标( $Y$ ), 绘制标准曲线, 计算回归方程为:  $Y = 2441383.64X - 29227.69$ ,  $r = 0.9999$ 。表明对照品在 0.16~ 1.60  $\mu\text{g}$  范围内, 进样量与峰面积呈良好线性关系。

**2.5 供试品溶液的制备** 取本品内容物约 1.0g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 25% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声(300 W, 50 kHz)处理 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 25% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ )滤过, 取续滤液, 即为供试品溶液。

**2.6 稳定性实验** 取同 1 份(批号为 050806)供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 24 h 测定, 测得的峰面积变化趋势不明显, RSD 为 1.65%, 表明在室温条件下供试品溶液 24 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同 1 批样品(批号 050806)5 份, 分别制备成供试品溶液, 在所确定的 HPLC 条件下, 测定羟基红花黄色素 A 的含量, 相对标准偏差 < 2%, 说明方法重复性良好。

**2.8 回收率试验** 精密称取已知含量同 1 批号的样品(批号 050806, 含量 2.15 mg/g)6 份, 每份约 0.5g, 分别精密加入羟基红花黄色素 A 对照品适量, 精密加 25% 甲醇 50 mL, 按“2.5”方法制成供试品溶液。测定羟基红花黄色素 A 的含量, 结果平均回收率为 99.45%, 相对标准偏差为 2.10%, 说明方法是

可靠的, 结果见表 1。

**2.9 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 按外标法计算供试品中羟基红花黄色素 A 的含量。测定结果见表 2。

表 1 回收率试验

进样量 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1.1277	1.10	2.2525	102.2	99.45	2.10
1.1361	1.10	2.2184	98.44		
1.0858	1.10	2.1783	99.31		
1.0756	1.10	2.1831	100.7		
1.0619	1.10	2.1204	96.09		
1.0903	1.10	2.1898	99.95		

表 2 样品测定结果( $n=3$ )

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
050806	2.1354	0.28
050807	2.1191	0.73
050808	2.0964	1.01

### 3 讨论

该制剂为数味中药材细粉混匀制备成的胶囊剂, 本含量测定方法参考《中国药典》红花项下羟基红花黄色素 A 的含量测定方法制订<sup>[1]</sup>, 供试品溶液的制备采用 25% 甲醇为溶剂超声提取, 同时考察了不同溶剂量(25, 50, 75 倍量), 不同超声时间(30, 40, 50 min)对提取的影响, 最终确定以 25% 甲醇 50 倍量超声提取 40 min 为最佳提取方法。

采用本实验高效液相色谱法测定红花散瘀胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量, 方法可靠, 简便, 准确, 灵敏, 重现性好, 回收率等均符合要求, 可作为该制剂的质量控制方法, 并可作为其他复方制剂的参考。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 103.