

# HPLC法测定回生甘露丸中羟基红花黄色素 A 的含量

陈兴莉, 王慧春\*

(青海省药品检验所, 西宁 810000)

**摘要** 目的: 建立高效液相色谱法测定回生甘露丸中羟基红花黄色素 A 的含量。方法: 采用 Zorbax Eclipse XDB C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-水-磷酸 (27: 73: 0.05) 为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 403 nm, 柱温 25 °C。结果: 羟基红花黄色素 A 进样量在 0.15~1.50 μg 范围内有良好的线性关系 ( $r = 0.9999$ ); 回收率 ( $n = 6$ ) 为 97.4%, RSD 为 2.0%。结论: 本法操作简便, 精密度好, 结果准确可靠, 可作为回生甘露丸的质量控制标准。

**关键词:** 回生甘露丸; 羟基红花黄色素 A; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)09-1556-02

## HPLC determination of hydroxy safflower yellow A in Huisheng Ganlu pills

CHEN Xing-li WANG Hui-chun\*

(Qinghai Institute for Drug Control Xining 810000 China)

**Abstract Objective** To establish an HPLC method for determination of hydroxy safflower yellow A in Huisheng Ganlu pills (a Tibetan traditional patent medicine). **Methods** The analysis was performed on a Zorbax Eclipse XDB C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase was methanol-water-phosphoric acid (27: 73: 0.05) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; The detective wavelength was 403 nm and the column temperature was 25 °C. **Results** The linearity range was 0.15-1.50 μg ( $r = 0.9999$ ); Recovery ( $n = 6$ ) was 97.4% with RSD of 2.0%. **Conclusion** The method is accurate, reliable, specific and can be used for the quality control of Huisheng Ganlu pills.

**Key words** Huisheng Ganlu pills; hydroxy safflower yellow A; HPLC

回生甘露丸是藏药复方制剂, 藏文名“堆子其岁日布”, 由石灰华、红花、檀香、石榴子、甘草、葡萄、蚤缀、力嘎都、香早芹子、牛黄等 17 味中藏药材组成<sup>[1]</sup>。具有滋阴养肺、制菌排脓之功效, 临床上用于肺脓肿、肺结核、体虚气喘、新旧肺病等的治疗。红花为本方的主要原料之一, 所含羟基红花黄色素 A 为其主要活性成分, 具有抗氧化的作用<sup>[2]</sup>。回生甘露丸原标准<sup>[1]</sup>无含量测定项, 本文建立了该制剂中羟基红花黄色素 A 的 HPLC 测定方法。操作简单, 重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

### 1 仪器与试剂

HP 1100 型高效液相色谱仪, Agilent G1314 A VWD 紫外检测器, HP 化学工作站; AB204-S 电子天平; KQ5200B 型超声波清洗器 (曙峰企业)。

羟基红花黄色素 A 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111637-200502), 甲醇为色谱纯 (山

东舜王实业有限公司化工分公司), 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。回生甘露丸样品 (青海帝玛尔藏药药业有限公司; 规格: 每丸 0.25 g 批号: 20070211, 20070218, 20070424)。

### 2 溶液制备

**2.1 对照品溶液** 取羟基红花黄色素 A 对照品适量, 精密称定, 用 25% 甲醇制成含羟基红花黄色素 A 0.075 mg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

**2.2 供试品溶液** 取样品 3 g (约 12 丸), 研细, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入 25% 甲醇 50 mL, 密塞称重, 超声处理 (300 W, 50 kHz) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用 25% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取滤液, 即得<sup>[3]</sup>。

**2.3 阴性样品溶液** 按处方比例及生产工艺, 制备缺红花药材的阴性样品, 依照供试品溶液的制备方法, 制成阴性样品溶液。

\* 通讯作者, Tel: (0971) 8232182; E-mail: wh8455927@163.com

### 3 色谱条件

色谱柱: Zorbax Eclipse XDB C<sub>18</sub>柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 水 - 磷酸 (27.73:0.05), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 403 nm<sup>[3]</sup>; 柱温: 25 °C; 理论板数按羟基红花黄色素 A 峰计算不低于 3000

在上述色谱条件下, 精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10 μL, 分别注入色谱仪。结果表明样品中其他成分对羟基红花黄色素 A 的测定无干扰, 见图 1。

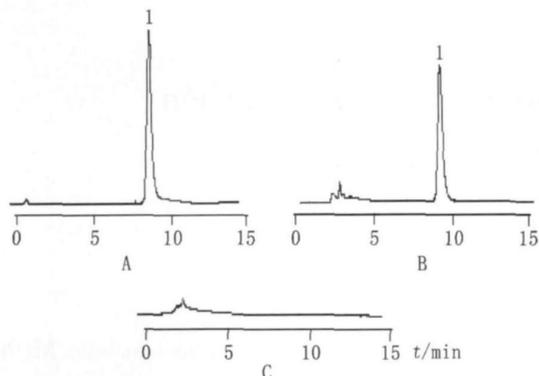


图 1 对照品(A)、样品(B)及阴性样品(C)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance(A), sample(B) and negative sample without Flos Carthami(C)

1. 羟基红花黄色素 A (hydroxy safflower yellow A)

### 4 线性关系考察

分别精密吸取 0.075 mg·mL<sup>-1</sup>对照品溶液 2 4 6 8 10 15 20 μL, 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下, 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为:

$$Y = 2.544 \times 10^3 X - 21.64 \quad r = 0.9999$$

羟基红花黄色素 A 进样量在 0.15~1.50 μg 范围内线性关系良好。

### 5 精密度试验

精密吸取 0.075 mg·mL<sup>-1</sup>对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 测得羟基红花黄色素 A 峰面积的 RSD 为 0.51%, 精密度良好。

### 6 重复性试验

取同一批号 (20070424) 样品 5 份, 按“2.2”项下方法制成供试品溶液, 在上述色谱条件下, 测定羟基红花黄色素 A 的含量。计算平均含量为 0.206 mg·丸<sup>-1</sup>, RSD 为 0.81%。

### 7 稳定性试验

取供试品溶液 (样品批号 20070424) 10 μL, 按上述色谱条件分别于 0 5 10 15 24 30 h 进样测

定, 计算羟基红花黄色素 A 峰面积的 RSD 为 0.90%。表明供试品溶液在 30 h 内稳定性良好。

### 8 加样回收率试验

取已知含量的样品 (批号 20070424 含量 0.21 mg·丸<sup>-1</sup>) 6 份, 研细, 每份约 1.5 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别加入 0.28 mg·mL<sup>-1</sup>对照品溶液 5.0 mL, 蒸干, 精密加入 25% 甲醇 50 mL, 按“2.2”项下的方法制成供试溶液, 按上述色谱条件测定羟基红花黄色素 A 的质量, 计算回收率。结果平均回收率 (n=6) 为 97.4%, RSD 为 2.0%。

### 9 样品测定

取 3 个批号的样品, 每批样品平行取 2 份, 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 每份溶液进样 2 次。按上述色谱条件测定, 外标一点法计算羟基红花黄色素 A 的含量。结果批号为 20070211, 20070218, 20070424 的样品中羟基红花黄色素 A 含量分别为 0.203, 0.200, 0.207 mg·丸<sup>-1</sup>。

### 10 讨论

10.1 曾采用中国药典方法以甲醇 - 乙腈 - 0.7% 磷酸溶液 (26:2:72) 为流动相<sup>[3]</sup>对羟基红花黄色素 A 进行 HPLC 法测定, 结果由于本品处方中药味多达 17 种, 分离不好, 基线较高。实验中经对流动相不同组分和比例的比较验证, 最终采用甲醇 - 水 - 磷酸 (27.73:0.05) 进行洗脱, 节省了时间和溶剂, 保持了柱效的稳定性, 分离较理想。

10.2 不同型号色谱柱的验证 使用本文的色谱条件, 用 Zorbax Eclipse XDB C<sub>18</sub>柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Hypersil ODS-C<sub>18</sub>柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Exsil ODS-C<sub>18</sub>柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 进行验证, 取供试品溶液各进样 1 次, RSD 为 1.7% (n=3), 均可使羟基红花黄色素 A 和杂质得到良好的分离。

10.3 小结 本法样品处理方法简便、稳定, 重复性良好, 可用于该藏药复方制剂的质量控制。

### 参考文献

- 1 Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health P R China Tibetan Medicine Vol 1 (中华人民共和国卫生部药品标准. 藏药. 第一册). 1995. 313
- 2 JIN Ming (金鸣), LI Jin-rong (李金荣), WU Wei (吴伟). The research of anti-oxidative function of hydroxysafflower yellow A (羟基红花黄色素 A 抗氧化作用的研究). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(6): 115
- 3 ChP (中国药典). 2005, Vol 1 (一部): 103

(本文于 2008 年 11 月 4 日收到)