

· 论 著 ·

八味冠心宁胶囊中羟基红花黄色素 A 水平测定方法的建立

张明洁^{1,2}, 刘瑞丽^{1△}

(1. 新乡医学院, 河南新乡 453000; 2. 河南省焦作市食品药品检验所 454000)

摘要:目的 建立八味冠心宁胶囊中羟基红花黄色素 A 水平的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Thermo C18 柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.7%磷酸溶液(26:2:72, v/v), 检测波长 403 nm, 柱温 30 ℃, 流速 1.00 mL/min。结果 羟基红花黄色素 A 在 0.026 3~0.420 0 μg 范围内呈良好的线性关系($r=0.999\ 99$), 平均回收率为 98.78%, 相对标准偏差(RSD)为 0.59%。结论 本研究所建立的方法简便、准确, 可用于八味冠心宁胶囊中羟基红花黄色素 A 水平的测定。

关键词:八味冠心宁胶囊; 高效液相色谱; 羟基红花黄色素 A

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.023 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)15-2134-03

Establishment of determination method of hydroxysafflor yellow A level in Bawei Guanxinning Capsule

ZHANG Mingjie, LIU Ruili[△]

(1. Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453000, China; 2. Jiaozuo Municipal Institute for

Food and Drug Control, Jiaozuo, Henan 454000, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of hydroxysafflor yellow A level in Bawei Guanxinning Capsule. **Methods** The HPLC method was adopted with the chromatographic column of the Thermo C18 column(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm) and the mobile phase of methanol-axetonitrile-0.7% phosphoric acid solution(26:2:72, v/v), the flow rate was 1.00 mL/min and the detection wave length was at 403 nm. **Results** Hydroxysafflor yellow A showed a good linear relation in the range of 0.026 3—0.420 0 μg($r=0.999\ 99$), the average recovery rate was 98.78%, RSD was 0.59%. **Conclusion** The established method is simple, accurate and can be used for the determination of hydroxysafflor yellow A level in Bawei Guanxinning Capsule.

Key words: Bawei Guanxinning Capsule; HPLC; hydroxysafflor yellow A

八味冠心宁胶囊为河南省焦作市温县第二人民医院的自制制剂, 处方由红花、瓜蒌、沉香、川芎、降香、丹参、赤芍和三七组成。具有宽胸理气, 活血祛瘀的作用^[1]。临床上主要用于治疗胸痹之气滞血瘀, 胸阳痹阻型。疗效确切, 在当地拥有良好的市场。药方中红花有活血通经, 散瘀止痛的作用, 而红花药材中的主要成分为羟基红花黄色素 A^[2-3]。医院自制制剂虽然相对于普通药物, 其市场较小, 使用范围有限, 但是在县、乡等地的市场还是极为广阔的, 而现有的医院制剂标准都是 20 世纪所制订, 方法简单, 已不足以满足现阶段对药品质量严格控制的现状。为提高现有八味冠心宁胶囊质量的水平, 拟采用现阶段技术较为成熟, 仪器较为广泛运用的高效液相色谱法测定该药中羟基红花黄色素 A 的水平。试验报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对照品为羟基红花黄色素 A (供水平测定用, 水平以 96.5% 计, 本品需冷冻保存, 使用前无需干燥处理, 中国食品药品检定研究院提供, 批号: 111637-201308); 样品为八味冠心宁胶囊(温县第二人民医院自制, 批号: 20150429、20150629、20150829)。

1.2 仪器与试剂 仪器: Agilent1260 高效液相色谱仪, CPA225D 型(赛多利斯)电子天平, KQ-300VDV 型(昆山市超声仪器有限公司)超声仪, UV-2550 型(岛津)紫外分光光度计; 试剂: 甲醇、乙腈为一级色谱纯(Tedia Company, Inc); 水为纯净水; 磷酸为分析纯。

1.3 色谱条件 色谱柱为 Thermo C18 柱(4.6 mm×250.0 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-0.7%磷酸溶液(26:2:72,

v/v), 检测波长 403 nm, 柱温 30 ℃, 流速 1.00 mL/min。

1.4 溶液的配制

1.4.1 对照品溶液的制备 称取对照品 0.013 6 g, 置 100.00 mL 经标化的容量瓶中, 加 25% 甲醇溶液 30.00 mL 使溶解, 摇匀并稀释至刻度即作为对照品溶液 1(浓度为 0.131 2 mg/mL)。再吸取 5.00 mL 对照品溶液 1 置 25.00 mL 经标化的容量瓶中, 加 25% 甲醇溶液稀释至刻度作为对照品溶液 2(浓度为 26.248 0 μg/mL)。

1.4.2 供试品溶液的制备 取八味冠心宁胶囊 20 粒, 将胶囊壳打开取其内容物, 混合均匀, 称重(约 1.5 g), 置锥形瓶中, 加 25% 甲醇溶液 25.00 mL, 盖上瓶塞, 称重, 记录数据, 超声提取 30 min, 冷却后再次称重, 和超声前数据比较, 用 25% 甲醇溶液补足重量(数据一致时可省略此步骤), 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

1.4.3 阴性对照溶液的制备 按该药的处方, 除去红花, 其余七味中药材按比例称取、打粉、混和均匀制成阴性对照样品, 然后按照供试品制备方法制成阴性对照溶液。

2 结果

2.1 专属性考察 按照色谱条件, 将对照品溶液 2、供试品溶液、阴性对照溶液(进样量为 10 μL)注入液相色谱仪, 得色谱图, 见图 1~3。结果表明: 图 1 为对照品溶液 2 在 8~9 min 出现羟基红花黄色 A 峰, 图 2 在相同的时间段供试品溶液也有一个色谱峰与之相对应, 但图 3 该时间段阴性对照溶液没有对应色谱峰出现, 所以可以认为阴性对照溶液对供试品溶液中羟基红花黄色素 A 峰无干扰。同时供试品溶液中羟基红花黄色

素 A 峰分离度大于 2, 理论塔板数大于 8 000, 符合 2010 版中国药典对高效液相色谱法的一般规定^[4]。

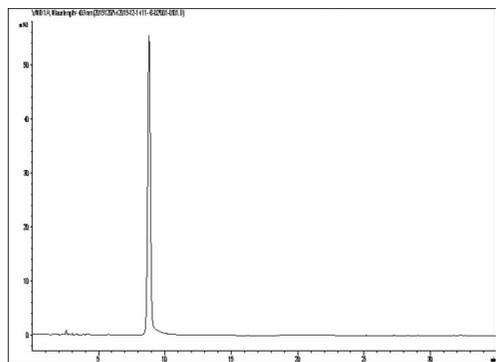


图 1 对照品溶液 2 色谱图

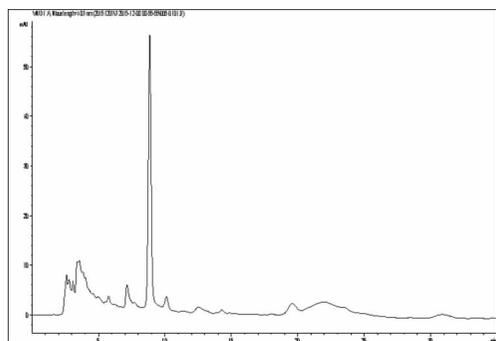


图 2 供试品色谱图

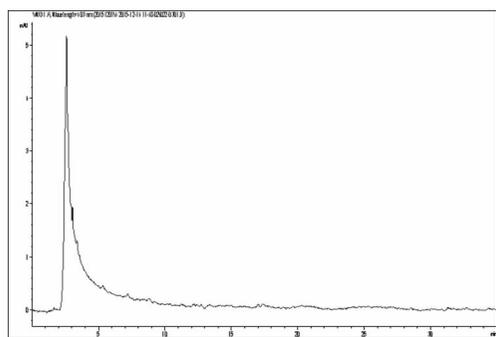


图 3 阴性对照色谱图

2.2 线性关系的考察 分别吸取对照品溶液 2 (浓度为 26.248 0 μg/mL) 1、2、4、8、16 μL, 注入液相色谱仪进行测定。以进样量 (0.026 3、0.052 6、0.105 0、0.210 0、0.420 0 μg) 为横坐标, 相应的色谱峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 3\,150.6 X - 10.025$, 相关系数 $r = 0.999\,9$ 。表明进样量为 0.026 3~0.420 0 μg 时, 羟基红花黄色素 A 线性关系良好。

2.3 精密度考察 精密吸取对照品溶液 2 (浓度为 26.248 0 μg/mL) 10 μL, 进样 6 次, 记录峰面积, 6 次的峰面积平均值为 823.7, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.47%, 精密度良好。

2.4 重复性考察 取同一批样品, 按 1.4.2 的方法制备 6 份供试品溶液, 精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪。6 份供试品峰面积的平均值为 832.0, RSD 为 0.60%。重复性良好。

2.5 稳定性考察 取同一供试品, 分别放置 0、4、8、12、16、20、24 h 后进样 (进样量 10 μL)。计算 7 次进样所得峰面积的平均值为 833.7, RSD 为 1.20%。结果表明该样品在 24 h 内测定, 结果基本稳定。

2.6 加样回收率试验 八味冠心宁胶囊 (批号: 20150829) 通

过该方法测得每克样品含羟基红花黄色素 A 为 0.441 1 mg, 精密称取 1.5 g, 分别置于 6 个锥形瓶中, 加入对照品溶液 1 (0.131 2 mg/mL) 1.00 mL。其余按供试品溶液的方法, 同法制备, 进样量 10 μL。见表 1。

表 1 加样回收试验结果

样品量 (mg)	添加量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.683 6	0.131 2	0.813 0	99.78	98.78	0.59
0.678 3	0.131 2	0.795 6	98.28		
0.679 3	0.131 2	0.795 4	98.14		
0.680 9	0.131 2	0.801 5	98.69		
0.680 6	0.131 2	0.802 2	98.82		
0.681 5	0.131 2	0.804 3	98.97		

3 讨论

在八味冠心宁胶囊的处方中选择红花作为考察对象, 红花含有黄酮类、生物碱类、炔类、木质素类等多种化合物^[5-8], 羟基红花黄色素 A 作为红花的主要成分, 属黄酮类化合物, 具有降压、抗炎镇痛的作用, 对心脑血管具有增加冠脉血流量及心肌营养性血流量的作用等^[9-10], 药理作用与八味冠心宁胶囊的疗效相符合, 且该成分稳定, 易于提取分离。

八味冠心宁胶囊中羟基红花黄色素 A 水平测定的检测波长选择 403 nm, 是由于将已配制好的对照品溶液 1 和供试品溶液在紫外分光光度计上 300~500 nm 进行波段扫描。二者均在 403 nm 波长处有最大吸收。而文中供试品的制备方法中超声时间的选择, 参照《中国药典》2010 年版一部红花水平测定的方法。取同一批样品 4 份, 照 1.4.2 方法制备 (其中超声时间 10 min 为 1 号样品, 20 min 为 2 号样品, 30 min 为 3 号样品, 40 min 为 4 号样品)。注入液相色谱仪 (进样量 10 μL), 最终决定样品的超声提取时间为 30 min。在进行对羟基红花黄色素 A 的测定时, 经过试验对比可以看出柱温对目标峰的峰形以及保留时间有一定影响, 为了使试验效果达到最佳, 在进行水平测定时将柱温控制在 30 ℃^[11]。

通过对 3 个批次样品的水平测定结果: 0.441 1 mg/g (批号: 20150829)、0.438 9 mg/g (批号: 20150429)、0.446 3 mg/g (批号: 20150629) 以及对该方法的方法学考察结果可见, 此方法对于检测八味冠心宁胶囊中的羟基红花黄色素 A, 专属性强、准确、高效、简单、快捷。适合作为此药的质量控制方法得以推广。

参考文献

- [1] 河南省食品药品监督管理局, 批件号: 2004Z01039. 河南省食品药品监督管理局医疗机构制剂标准八味冠心宁胶囊[S]. 河南: 河南省食品药品监督管理局, 2004.
- [2] 李志峰, 王琦, 吴蓓, 等. 红花有效部位制备工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 643-645.
- [3] 胡燕, 王文波, 宋力飞, 等. 红花 HPLC 指纹图谱研究[J]. 湖南中医杂志, 2013, 29(3): 110-112.
- [4] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 141.
- [5] 寇培艳. HPLC 法测定当归-10 味散中 (下转第 2138 页)

有关^[10-12]。

本研究显示,两组患者术后 MMSE 评分比较差异有统计学意义,发生 POCD 的患者例数也比 C 组减少。手术、麻醉操作可发生应激反应,过度应激易导致全身炎症反应综合征。有研究发现,异常增高的炎症因子可造成认知障碍,影响学习、记忆^[13-14],大量的炎症因子可改变血脑屏障的通透性,白细胞容易迁移到脑内,发生中枢神经系统炎症反应,最终导致神经元细胞死亡,造成脑功能受损^[15]。本研究发现 C 组 T1 和 T2 时 IL-6、TNF- α 水平较术前有所上升,术后第 3 天最高,与上述研究结果相似。因此,降低血浆中炎症因子水平或许能为 POCD 的预防提供一条新的途径。

综上所述,右美托咪定可减少静脉麻醉下老年胸科手术患者术后 POCD 的发生,但相关机制尚未明确。负荷剂量后持续输注右美托咪定能有效维持患者术后血流动力学和血糖的稳定,减轻机体的应激反应,有益于患者脑功能的保护。但首剂量给药过多或注入速度过快易引起低血压及心动过缓;可使用负荷剂量减半等方法^[16],并严格控制速度,对于高龄患者可以酌情再减量使用。

参考文献

[1] Slosberg PS. The neuroprotective effect of dexmedetomidine in the hippocampus of rabbits after subarachnoid hemorrhage[J]. Surg Neurol, 2009, 72(6): 648.

[2] 张静,田鸣. 老年患者术后认知功能障碍病理生理机制的研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2011, 32(1): 78-81.

[3] Monk TG, Weldon BC, Garvan CW, et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery[J]. Anesthesiology, 2008, 108(1): 18-30.

[4] 朱俊超,马虹,王俊科. 七氟醚预处理对急性心肌缺血再灌注损伤大鼠认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2008, 28(2): 145-148.

[5] Newman MF, Kramer D, Croughwell ND, et al. Differential age effects of mean arterial pressure and rewarming on cognitive dysfunction after cardiac surgery [J]. Anesth Analg, 1995, 81(2): 236-242.

[6] Routledge FS, McFetridge-Durdle JA, dean CR. night-time blood pressure patterns and target organ damage a review[J]. Can J Cardio, 2007, 23(2): 132-138.

[7] 马立靖,马臻,李冬梅,等. 预注右美托咪定的镇静效应及其对全麻患者气管插管反应的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2012, 28(7): 637-639.

[8] Eser O, Cosar M, Fidan H, et al. The effect of dexmedetomidine in the prefrontal cortex of rabbits after subarachnoidal hemorrhage[J]. Neurol Psychiat Br, 2006, 13(4): 189-194.

[9] Eser O, Fidan H, Coskun O, et al. Attenuation of vasospasm by dexmedetomidine after experimental subarachnoidal haemorrhage in rabbits [J]. Turk J Med Sci, 2008, 38(3): 191-197.

[10] Kang SH, Kim YS, Hong TH, et al. Effects of dexmedetomidine on inflammatory responses in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2013, 57(4): 480-487.

[11] Ueki M, Kawasaki T, Habe K, et al. The effects of dexmedetomidine on inflammatory mediators after cardiopulmonary bypass [J]. Anaesthesia, 2014, 69(7): 693-700.

[12] Sukegawa S, Higuchi H, Inoue M, et al. Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory responses in the injected region [J]. Anesth Analg, 2014, 118(2): 473-480.

[13] Cumiskey D, Curran BP, Herron CE, et al. A role for inflammatory mediators in the IL-18 mediated attenuation of LTP in the rat dentate gyrus [J]. Neuropharmacology, 2007, 52(8): 1616-1623.

[14] Belarbi K, Jopson T, Tweedie D, et al. TNF- α protein synthesis inhibitor restores neuronal function and reverses cognitive deficits induced by chronic neuroinflammation [J]. J Neuroinflammation, 2012, 9: 23.

[15] Terrando N, Eriksson LI, Ryu JK, et al. Resolving post-operative neuroinflammation and cognitive decline [J]. Ann Neurol, 2011, 70(6): 986-995.

[16] 张斌,郜琨,陈明迪,等. 右美托咪定对实施无创正压通气的慢性阻塞性肺疾病急性加重患者镇静的研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(18): 2654-2655.

(收稿日期:2016-02-20 修回日期:2016-04-29)

(上接第 2135 页)

羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 北方药学, 2012, 9(3): 7-8.

[6] 陈宗良,朱克,周玲娜,等. HPLC 法测定愈伤灵胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(2): 297-299.

[7] 武晓兰,郜文泉,斯日棍其其格,等. HPLC 测定胡日查六味丸中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 143-145.

[8] 温然,郝博,高瑛,等. 骨愈方中羟基红花黄色素 A 的体外透皮性能考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 40-42.

[9] Zhou X, Tang L, Xu Y, 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): 27-43.

[10] Asgarpanah J, Kazemivash N. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L [J]. Chin J Integr Med, 2013, 19(2): 153-159.

[11] 杜单,邓艳梅,徐建. HPLC 法测定舒筋活血片中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 淮海医药, 2013, 31(1): 75-76.

(收稿日期:2016-02-21 修回日期:2016-04-28)