心脑脉舒口服液质量控制与降血脂作用相关研究

姚 东 胡 北 高 军 郭晓欢 马宏达 安 晔
(沈阳军区总医院药剂科,沈阳,110016)

摘要 目的:探索心脑脉舒口服液中羟基红花黄色素 A 含量与高脂血症大鼠降血脂作用的相关性。方法:采用高效液相色谱法建立羟基红花黄色素 A 含量测定方法,测定高脂血症大鼠血清三酰甘油(Triglyceride,TG)、胆固醇(Cholesterol,TC)、高密度脂蛋白(Highdensitylipoprotein,HDL-C)、低密度脂蛋白(Low Densith Lipoprotein,LDL-C)的含量。结果:羟基红花黄色素 A 含量测定方法准确性、重复性良好,羟基红花黄色素 A 的含量与高脂血症大鼠降血脂作用存在一定相关性。结论:羟基红花黄色素 A 可作为心脑脉舒口服液质量控制指标。

关键词 心脑脉舒口服液;羟基红花黄色素 A;高效液相色谱法;降血脂

Research on the Correlation between the Quality of Xinnao Maishu Oral Solution and its Hypolipidemic Effect

Yao Dong, Hu Bei, Gao Jun, Guo Xiaohuan, Ma Hongda, An Ye
(*Department of Pharmacy, General Hospital, Shenyang Military Command Area, shenyang* 110016, *China*)

Abstract **Objective**: To explore the correlation between the content of hydroxysafflor A in Xinnao Maishu oral solution and hypolipidemic effect in hyperlipidemia rats. **Methods**: The content of hydroxysafflor A in Xinnao Maishu oral solution was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), and the content of serum cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL-C), high density lipoprotein (HDL-C) in hyperlipidemic rats were determined. **Results**: The method of hydroxysafflor A content determination is accurate and reproducible. The results showed that there was a certain correlation between the content of hydroxysafflor A and hypolipidemic effect. **Conclusion**: The content of hydroxysafflor A can be used as the quality control index of Xinnao Maishu oral solution.

Key Words Xinnao Maishu oral solution; Hydroxysafflor A; HPLC; Hypolipidemic
中图分类号:R284.1 **文献标识码**:A **doi**:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.11.037

心脑脉舒口服液为军队医疗单位非标准制剂,处方由红花、当归和川芎组成,具有补血活血、化瘀止痛之功效,主治冠心病,心绞痛,动脉粥样硬化等症。该制剂在沈阳军区总医院临床应用近 20 年,疗效确切,为本院治疗心血管疾病的主要药物。应《关于军队医疗机构标准提高计划》要求,提高本制剂质量控制水平,建立羟基红花黄色素 A 含量测定方法,同时考察不同含量心脑脉舒口服液对高脂血症大鼠血脂的调节作用。

1 材料与方法

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Thermo 公司 U3000 色谱仪);BT25S 型电子分析天平(德国赛特利斯)。

1.2 实验动物 健康 SD 大鼠 50 只,体重(300 ± 20)g,雄性,年龄 360 ~ 390 d 之间,随机分组,由辽宁长生生物技术有限公司提供,实验动物的合格证号:SCXK(辽)2010-0001。

1.3 试药 羟基红花黄色素 A 对照品(中检所,批号为:111637-201207)。心脑脉舒口服液(沈阳军区总医院,批号:20131030,20140428,20140822);丙硫氧嘧啶(上海朝晖药业有限公司,批号:1308F06);甲醇(色谱纯,购自 Fisher 公司),冰醋酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),重蒸水(自制)。

2 方法

2.1 羟基红花黄色素 A 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C_{18}(4.6 mm × 250 mm,5 μm);柱温:30 ℃;流动相:甲醇-水-醋酸(25∶75∶0.2);流速:1 mL/min;检测波长为 403 nm。

2.1.2 溶液的制备 取羟基红花黄色素 A 对照品适量,精密称定,加入甲醇适量使溶解,制成每 1 mL 含 1.004 mg 羟基红花黄色素 A 的对照品溶液;精密量取心脑脉舒口服液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加入流动相至刻度,摇匀,滤过,作为供试品溶液;取不含红花药材的阴性样品溶液,按供试品溶液制备方法

基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题面上项目(编号:13ZJZ01-3);辽宁省自然科学基金项目(编号:2013020182)
作者简介:姚东(1986—),女,满族,药师,硕士,研究方向:中药学,E-mail:yaodong_2010@163.com
通信作者:安晔(1967—),女,汉族,副主任药师,硕士,研究方向:生药学,E-mail:anye3595@sina.com

制得阴性样品溶液。

2.1.3　专属性试验　分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 20 μL，按“2.1.1”项色谱条件进行测定，测定结果见图 1。

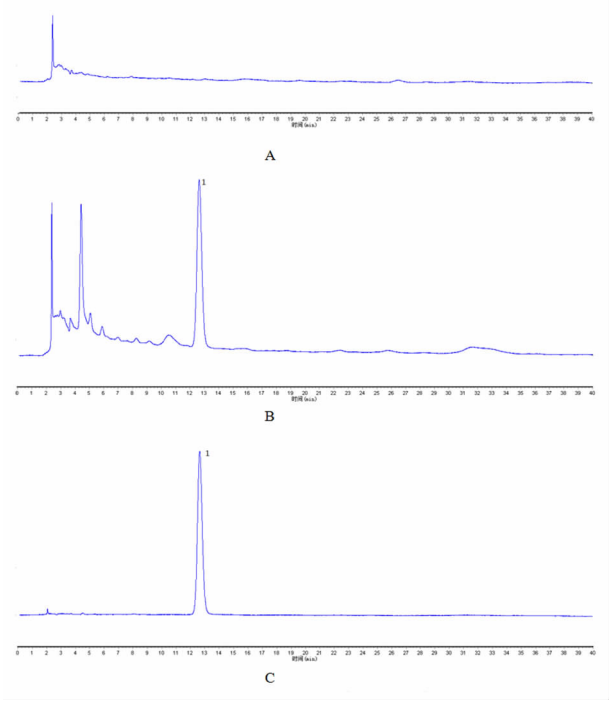

图 1　羟基红花黄色素 A 液相色谱图

注：A　阴性样品溶液　B　供试品溶液　C　羟基红花黄色素 A 对照品溶液　1　羟基红花黄色素 A

结果表明，羟基红花黄色素 A 的保留时间约为 13 min，阴性对照样品无干扰，羟基红花黄色素 A 分离度（R）大于 1.5。实验表明此法专属性强。

2.1.4　线性关系考察　分别精密吸取浓度为 0.251、0.502、1.004、2.008、4.016、8.032、16.064 μg/mL 的羟基红花黄色素 A 对照品溶液各 20 μL，注入液相色谱仪，测定各自峰面积，以对照品浓度（μg/mL）为横坐标，峰面积为纵坐标，求得回归方程为 y = 3.098 68x − 3.945 19，r = 0.999 7（n = 6）。结果表明羟基红花黄色素 A 在 0.251 ~ 16.064 μg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.5　精密度实验　精密吸取对照品溶液 20 μL，连续测定 6 次，记录各色谱峰的峰面积，测得羟基红花黄色素 A 峰面积值的 *RSD* 为 0.83%（n = 6）。实验结果表明仪器精密度较好。

2.1.6　稳定性实验　精密吸取同一供试品溶液，分别于 0，2，4，6，8，10 测定，记录色谱峰的峰面积，结果羟基红花黄色素 A 峰面积 *RSD* 为 0.89%（n = 6），结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.1.7　重复性实验　取同一批次样品，平行制备 6 份供试品溶液，测定羟基红花黄色素 A 含量。结果样品中羟基红花黄色素 A 平均含量为 59.92 μg/mL，*RSD* 为 0.76%（n = 6），结果表明，本方法重复性良好。

2.1.8　回收率实验　精密吸取已知浓度（59.92 μg/mL）的心脑脉舒口服液 0.5 mL（共 6 份），分别加入羟基红花黄色素 A 对照品溶液（56.22 μg/mL）0.5 mL，制成供回收率用供试品溶液，测定羟基红花黄色素 A 含量，计算回收率，结果羟基红花黄色素 A 的平均回收率为 100.98%，*RSD* 为 1.92%（n = 6），符合要求。结果见表 1。

表 1　加样回收率实验结果

编号	样品量（μg）	加入量（μg）	测得量（μg）	回收率（%）	平均回收率（%）	*RSD*（%）
1	29.96	28.11	59.13	103.79	100.98	1.92
2	29.96	28.11	58.17	100.37		
3	29.96	28.11	58.27	100.71		
4	29.96	28.11	58.12	100.19		
5	29.96	28.11	58.79	102.56		
6	29.96	28.11	57.59	98.29		

2.1.9　样品含量测定　取 3 批次样品，制备供试品溶液，测定各批次样品中羟基红花黄色素 A 的含量。结果见表 2。

表 2　三批次样品含量测定结果

批号	峰面积	羟基红花黄色素 A 含量 μg/mL（n = 2）	平均值 μg/mL
20131030	257.9916	56.77	59.92
	250.0533	55.03	
20140428	169.4905	37.30	39.72
	167.2097	36.79	
20140513	58.0203	19.98	19.96
	57.8317	19.84	

2.2　高脂血症大鼠血脂的测定

2.2.1　实验方法　实验大鼠 50 只，分为 5 组，空白对照组 10 只，给予普通饲料喂养，其余 40 只作为高脂血症组，给予高脂乳液[1]喂养 2 周后，根据体重水平，随机分为高脂模型组，心脑脉舒口服液 3 个批次组（见表 3），分组结束开始给药，空白对照组和高脂血症模型组给予同体积的蒸馏水，除空白对照组其余各组继续给予高脂乳液喂养，连续给药 4 周。末次给药后禁食不禁水 12 h，大鼠眼眶静脉丛取血 1 mL，待凝血后，3 000 r/min 离心 15 min，分取血清，测定 TC、TG、LDL-C、HDL-C 含量。

2.2.2　实验结果　高脂血症大鼠血脂测定结果显示，模型组大鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 均显著高于正常组（$P < 0.01$），HDL-C 显著低于正常组（$P <$

表 3 心脑脉舒口服液对高脂血症大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s$,例数 = 10)

组别	剂量(mg/kg)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)
空白对照组	——	1.60 ± 0.21**	0.77 ± 0.21**	0.79 ± 0.16**	0.85 ± 0.29**
模型组	——	3.63 ± 0.30	1.02 ± 0.42	1.35 ± 0.35	0.56 ± 0.28
心脑脉舒口服液(批号:20131030)	0.60	1.20 ± 0.19**	0.62 ± 0.23**	0.79 ± 0.16**	0.65 ± 0.27*
心脑脉舒口服液(批号:20140428)	0.40	1.55 ± 0.22**	0.67 ± 0.15**	0.87 ± 0.17**	0.68 ± 0.25*
心脑脉舒口服液(批号:20140513)	0.20	2.35 ± 0.18**	1.01 ± 0.33	1.12 ± 0.24*	0.63 ± 0.31*

注:剂量以羟基红花黄色素 A 计,*P < 0.05,**P < 0.01。

0.01),心脑脉舒口服液各组可显著降低高脂血症大鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量,显著提高 HDL-C。实验数据经 SPSS 11.0 软件统计,进行单因素方差分析。结果见表 3。

3 讨论

心脑脉舒口服液因其具有良好的临床疗效,沈阳军区总医院数年来对该制剂品种进行了多方面较为深入研究,包括对其多指标成分进行含量测定,考察该制剂对血管平滑肌细胞增殖、血小板聚集功能和血流动力学的影响,研究结果显示该制剂通过多途径对冠心病起治疗作用[2-4]。在前期研究基础上对制剂中红花的有效成分进行质量控制研究,开展该制剂对血脂调节方面的实验研究,因此本课题对制剂中的红花进行含量与药效学研究。

红花作为传统的活血化瘀中药,用于冠心病、高血压和心绞痛的治疗[5-9]。红花中的红花黄色素能明显降低高脂血症大鼠血清 TC、TG、LDL-C,升高 HDL-C 水平[9-10],提示红花黄色素有助于预防和治疗动脉粥样硬化。

由于红花黄色素对热不稳定[11-12],在制剂生产过程中存在损失,提取工艺对其含量影响明显[13-15],羟基红花黄色素 A 可作为其指标性成分进行质量控制[16-20]。依据本实验制定的含量测定方法对多批次心脑脉舒口服液进行测定,实验结果提示,各批次产品中羟基红花黄色素 A 的含量存在差异。优选 3 个批次产品进行药效学研究,结果提示制剂中羟基红花黄色素 A 的含量水平与其对高脂血症大鼠血脂水平的调节效果存在相关性,中高剂量优于低剂量。因此以羟基红花黄色素 A 为指标建立制剂标准,可以有效控制制剂质量,保证产品疗效。

参考文献

[1]宋兆旭,常红,程海燕. 利之舒对老龄大鼠高脂血症模型的实验研究[J]. 当代医学,2007,10(12):37-38.

[2]隋因,郭涛,孙沂,等. 高效毛细管电泳法测定心舒口服液中腺苷、芦丁和阿魏酸的含量[J]. 中国医院药学杂志,2005,25(3):232-234.

[3]郭涛,刘明妍,隋因,等. 心舒口服液对大鼠主动脉血管平滑肌细胞增殖和家兔体外血小板聚集功能的影响[J]. 中国药学杂志,2005,40(19):1466-1469.

[4]郭涛,宋洪涛,韦平,等. 心舒口服液对麻醉犬心脏血流动力学的影响[J]. 解放军药学学报,2001,17(1):8-13.

[5]陈梦,赵丕文,孙艳玲,等. 红花及其主要成分的药理作用研究进展[J]. 环球中医药,2012,5(7):556-560.

[6]张宏宇,陈沫,熊文激. 红花黄色素抗血栓和降血脂作用的实验研究[J]. 中国实验诊断学,2010,14(7):1028-1031.

[7]王志辉,丁思华,王宏宇. 调脂胶囊对动脉粥样硬化患者血脂、炎症反应以及氧化损伤的影响[J]. 中国医刊,2013,48(2):39.

[8]赵敏,邢武军,姜宇宙. 自拟调脂饮对高脂血症大鼠血脂及过氧化物水平的影响[J]. 中国医药,2013,8(7):915-916.

[9]何伟,谢雁鸣,王永炎. 血脂康胶囊上市后证候临床再评价症状条目的筛选[J]. 中国中药杂志,2011,36(20):2898-2900.

[10]史旭波,胡大一. 动脉粥样硬化性心血管疾病防治中的误区[J]. 中国循环杂志,2014,29(2):158-160.

[11]罗晶,黄宇玫,曾文雪. 红花中羟基红花黄色素 A 的提取工艺及其热稳定性研究[J]. 江西中医学院学报,2009,21(5):39-42.

[12]李红,黄罗生,平其能,等. 红花黄色素的稳定性考察[J]. 海峡药学,2009,21(1):12-14.

[13]李文静,蔡德福,于庆莲,等. 正交法优选红花抗肝纤维化的水溶性成分提取工艺[J]. 医药导报,2014,33(7):931-934.

[14]张荣,刘睿,黄天来,等. HPLC 法研究当归-红花单煎及共煎液中有效成分含量的变化[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(5):448-452.

[15]张静,陈红专,王海亮,等. 红花中羟基红花黄色素 A 的提取纯化工艺研究[J]. 中医药学报,2013,41(6):13-16.

[16]成西霞,王琳. 活血液的质量标准研究[J]. 解放军医药杂志,2013,25(10):82-84.

[17]汪建君,李玲玲,陈慧玲,等. HPLC 法测定正天丸和正天胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 国家药品标准,2014,14(3):197-200.

[18]莎日娜,何春龙,王焕芸. 高效液相色谱法测定伊赫汤中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 药学实践杂志,2013,31(2):140-142.

[19]何珊珊,万军,谭睿. 高效液相色谱法测定肺热普清散中羟基红花黄色素 A 含量[J]. 中国药业,2013,22(19):29-30.

[20]李长印,储继红,张军,等. LC-MS/MS 法测定人血浆中羟基红花黄色素 A 的浓度[J]. 中国药理学通报,2014,30(10):1402-1407.

(2015 - 03 - 19 收稿 责任编辑:张文婷)