

儿糖浆原料浓缩药液约 1.5 kg, 加醋酸乙酯萃取 6 次, 每次 2 000 mL, 合并醋酸乙酯萃取液, 蒸干, 拌样 40 g, 上硅胶柱, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 收集馏份。采用高效液相制备的方法, 从上述馏份中得到了 6'-羟基-爵床定 B 对照品, 并对其结构进行了解析。通过物理、化学、色谱及光谱数据, 确定 6'-羟基-爵床定 B 为一新木脂素化合物。采用《中国药典》2005 年版一部附录 V E (4) 不加校正因子的主成分自身对照法, 测得其质量分数为 98% 以上, 符合要求。

3.2 测定波长的选择: 将 6'-羟基-爵床定 B 对照品溶液注入液相色谱仪, 采用 Waters™ 996 二极管阵列紫外检测器对 6'-羟基-爵床定 B 色谱峰进行紫外扫描, 结果分别在 256.0 nm 及 305.7 nm 波长处有最大吸收, 但 256.0 nm 波长处的响应值比 305.7 nm 波长处的响应值大, 故选择检测波长为 256 nm, 结果灵敏准确。

3.3 流动相的选择: 采用乙腈-水为流动相, 当其比例达 31 : 69 时, 6'-羟基-爵床定 B 对照品的保留时

间约为 19 min 左右, 且在此条件下样品中 6'-羟基-爵床定 B 与其他相关峰均能达到基线分离, 阴性对照无干扰。

3.4 提取萃取次数的选择: 根据制剂以及 6'-羟基-爵床定 B 对照品的提取方法, 对制剂醋酸乙酯提取的萃取次数进行了考察, 结果萃取次数为 2、3、4、5 时, 6'-羟基-爵床定 B 的质量浓度分别为 10.41、10.58、10.54、10.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。表明醋酸乙酯萃取提取 3 次, 基本将 6'-羟基-爵床定 B 提取完全。为了节省溶剂和时间, 故将萃取次数定为 3 次。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 1977.
- [3] Warashina T, Noro T. Steroidal glycosides from the roots of *Metaplexis japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49 (7): 2103-2108.
- [4] Asano J, Chiba K, Tada M, et al. Antiviral activity of lignans and their glycoside from *Justicia procumbens* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42 (3): 713-717.

HPLC 法测定红花七厘散中血竭素高氯酸盐

王 杰, 吴贵华, 吕曙华

(天津市药品检验所, 天津 300070)

红花七厘散为天津中新药业集团股份有限公司天津宏仁堂制药厂生产的中药成方制剂, 其处方以乳香、血竭、当归、三七等 11 味中药材组成, 具有散瘀、活血、消肿、止痛作用, 用于跌打损伤、血瘀疼痛、外伤出血。质量标准已收入《国家食品药品监督管理局国家中成药标准汇编骨科分册》。处方中血竭具有祛瘀定痛、止血生肌作用, 与成品的功效相吻合。因此, 在原标准和相关文献报道^[1-3]基础上, 本实验采用高效液相色谱法以血竭素高氯酸盐为定量指标进行了测定, 为该制剂的质量控制提供了保证。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪。血竭素高氯酸盐对照品购自中国药品生物制品检定所 (批号 0811-9302)。红花七厘散由中新药业集团股份有限公司天津宏仁堂制药厂提供。乙腈为色谱纯, 甲醇、磷酸二氢钠、磷酸为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C_{18} 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠 (35 : 65); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 440 nm。理论板数按血竭素高氯酸盐峰计不低于 5 000。色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 取血竭素高氯酸盐对照品适量, 精密称定, 加 7% 磷酸甲醇制成 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品, 研细, 取 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 7% 磷酸甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 20 min, 放冷, 再称定质量, 用 7% 磷酸甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备: 按处方配比取除血竭的各药, 制成阴性对照, 按供试品溶液制备方法处理。

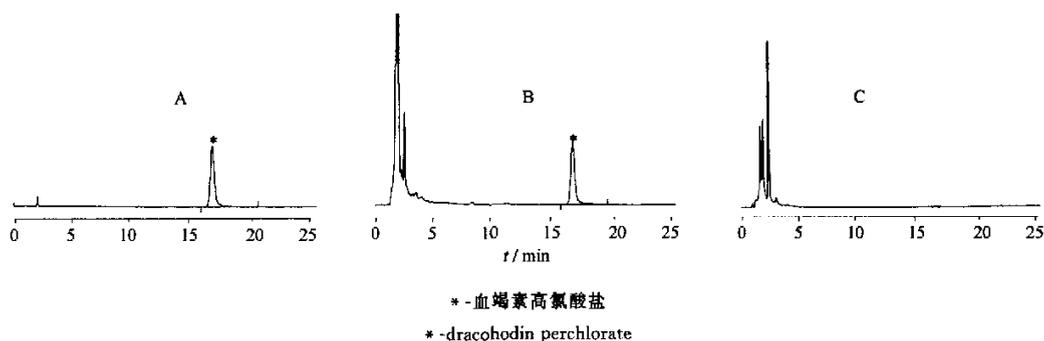


图 1 血竭素高氯酸盐对照品(A)、红花七厘散(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of dracohodin perchlorate reference substance (A), Honghua Qili Powder (B), and negative sample (C)

2.3 线性关系考察:精密称取血竭素高氯酸盐对照品 11.7 mg 置 50 mL 量瓶中,加 7% 磷酸甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1、2、3、4、5 mL 置 25 mL 量瓶中,加 7% 磷酸甲醇稀释至刻度,摇匀,吸取 10 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积值。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程: $Y = 746\ 124.46 X - 3\ 539.65$, $r = 0.999\ 9$,线性范围为 0.093 6~0.468 0 μ g。

2.4 精密度试验:精密吸取供试品溶液(批号 000201) 10 μ L,连续进样 5 次,结果其峰面积的 RSD 为 0.94%。

2.5 稳定性试验:取本品(批号 000201)供试品溶液在 0、2、4、6、8 h 进样,测定各自血竭素高氯酸盐峰面积值,计算得其 RSD 为 0.13%,表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.6 重现性试验:取同一批样品(批号 000201) 5 份,制备供试品溶液,进样测定,结果血竭素高氯酸盐平均质量分数为 1.581 mg/g, RSD 为 0.96%。

2.7 加样回收试验:取血竭素高氯酸盐对照品加 7% 磷酸甲醇分别制成 0.234 mg/mL 的溶液,备用。精密称取样品 0.21 g(批号 000201,含血竭素高氯酸盐为 1.581 mg/g) 5 份,精密加入上述对照品溶液各 1 mL,制备供试品溶液,进样,测定,结果平均回收率为 101.1%, RSD 为 1.4%。

2.8 样品测定:取样品 4 批,制备供试品溶液,进样,测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 磷酸甲醇质量浓度的考察:取本品(批号 000201),分别精密称取 4 份,每份 0.3 g,精密加入

表 1 红花七厘散中血竭素高氯酸盐的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Dracohodin perchlorate in Honghua Qili Powder ($n=2$)

批号	血竭素高氯酸盐/(mg·g ⁻¹)
000201	1.58
000602	1.28
000802	1.64
000601	1.32

3%、5%、7%、8% 磷酸甲醇 25 mL,超声处理 20 min,其他按照供试品处理方法制备供试品溶液,进样 10 μ L,测定,结果血竭素高氯酸盐的质量分数分别为 1.14、1.46、1.58、1.57 mg/g。实验结果表明,磷酸甲醇质量浓度定为 7% 较为适合。

3.2 提取时间的考察:取本品(批号 000201),分别精密称取 3 份,精密加入 7% 磷酸甲醇 25 mL,超声提取时间分别为 10、20、30 min,其他按照供试品处理方法制备供试品溶液,进样 10 μ L,结果血竭素高氯酸盐的质量分数分别为 1.45、1.58、1.46 mg/g。实验结果表明 7% 磷酸甲醇提取时间定为 20 min 较为合适。《中国药典》2000 年版一部血竭的测定中,使用 3% 磷酸甲醇进行溶解,而本实验中发现磷酸的质量浓度对其溶解性有影响,试验结果表明 7% 的磷酸甲醇溶解最好。

References:

- [1] Wang T S, Cheng D Y, Li Y. Determination of dracohodin in Gutai Capsules by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Formu (中国实验方剂学杂志)* 2005, 11 (4): 16-17.
- [2] Zhang L M, Yang L, Chang L. Determination of dracohodin in Weiyingule Capsules by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药)*, 2002, 13 (6): 331-332.
- [3] Zhu H D, Yang Y R, Li J Y. Determination of dracohodin in Kezhi Suppository by HPLC [J]. *China Pharm (中国药师)*, 2004, 7 (11): 862-863.