

# HPLC法测定辽源七厘复方中药控释微丸中龙血素B的含量<sup>△</sup>

刘应杰<sup>1\*</sup>, 杨宗发<sup>1#</sup>, 何文生<sup>2</sup>, 江尚飞<sup>1</sup>, 谭小梅<sup>1</sup>, 何静<sup>1</sup>, 邱妍川<sup>1</sup>(1.重庆医药高等专科学校药学院, 重庆 401331; 2.重庆市大足区人民医院药剂科, 重庆 402360)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2929-02  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.18

**摘要** 目的:改良测定辽源七厘复方中药控释微丸中龙血素B含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-1%冰醋酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为206 nm。结果:龙血素B的质量浓度在0.40~20.00 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.9995$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为100.50%, RSD=1.90% ( $n=6$ )。结论:该改良方法操作简便、分离效果好、灵敏度高、重复性好,可用于辽源七厘复方中药控释微丸的质量控制。

**关键词** 辽源七厘复方中药控释微丸;龙血素B;高效液相色谱法;含量测定

**Content Determination of Loureirin B in Liaoyuan Qili Compound TCM Controlled-release Pellets by HPLC**  
LIU Ying-jie<sup>1</sup>, YANG Zong-fa<sup>1</sup>, HE Wen-sheng<sup>2</sup>, JIANG Shang-fei<sup>1</sup>, TAN Xiao-mei<sup>1</sup>, HE Jing<sup>1</sup>, QIU Yan-chuan<sup>1</sup>(1. College of Pharmacy, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China; 2. Dept of Pharmacy, Chongqing Dazu District People's Hospital, Chongqing 402360, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To improve the method for content determination of loureirin B in Liaoyuan qili compound TCM controlled-release pellets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was carried out on Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-1% glacial acetic acid (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 206 nm. RESULTS: The linear range of loureirin B was 0.40-20.00 μg/ml ( $r=0.9995$ ), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The average recoveries was 100.50% (RSD=1.90%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The improved method is simple, well-separated, sensitive and reproducible, and can be used for the quality control of Liaoyuan qili controlled-release pellets.

**KEYWORDS** Liaoyuan qili controlled-release pellets; Loureirin B; HPLC; Content determination

辽源七厘复方中药控释微丸是在古方七厘散基础上改良而成的中药复方制剂,由血竭、红花、三七、当归等13味药组成,具有活血散瘀、消肿止痛、止血生肌的功效<sup>[1-6]</sup>。该制剂的主药为血竭,其有效成分为龙血素B。文献报道常选择高效液相色谱(HPLC)法对其进行含量检测<sup>[7-9]</sup>,以控制制剂质量,但该成分易受方中其他成分的干扰,影响结果的准确性。因此,笔者对其测定方法进行了改良。

## 1 材料

### 1.1 仪器

TU-1901型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);PC4010型HPLC仪,含二元高压泵、Mode 201紫外检测器等(天津市兰博实验仪器设备有限公司);AUX220型双量程分析天平(日本岛津公司);SE-80型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

辽源七厘复方中药控释微丸(笔者自制,批号:20130511、20130512、20130513);龙血素B对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111558-201006);甲醇(成都市科龙化工试剂厂,批号:110319,色谱纯);冰醋酸(重庆川东化工集团有限公司,批

号:100412,色谱纯);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取样品10 g,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于含龙血素B 3.0 mg),置250 ml量瓶中,加甲醇适量,超声处理(功率:280 W,频率:60 kHz)10 min使溶解,再加甲醇稀释至刻度,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取龙血素B对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每1 ml中约含20.0 μg龙血素B的对照品溶液,即得。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按样品处方工艺制备不含血竭的阴性样品,再按“2.1.1”项下方法制成阴性对照溶液,即得。

### 2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-1%冰醋酸溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 25%→30% A; >5~15 min, 30%→35% A; >15~30 min, 35%→40% A; >30~60 min, 40%→45% A);检测波长:206 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:25℃;进样量:20 μl。按此色谱条件,取龙血素B对照品溶液与供试品溶液分别进样,可得各色谱峰的峰形、分离度均符合要求,各峰保留时间重现性好。其中,龙血素B的保留时间为9.05 min。理论板数按龙血素B峰计算应>5 000;分离度>1.5。

△基金项目:重庆市卫生局中医药科研计划立项(No.2011-2-171)

\*实验师。研究方向:药品检验。电话:023-86262045。E-mail:lyj6662005@sina.com

#通信作者:教授。研究方向:药物制剂。电话:023-86262375。E-mail:yzf3721@126.com

### 2.3 干扰试验

精密量取龙血素B对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各20 μl,分别注入HPLC仪,按上述色谱条件测定。结果可见,供试品色谱中,在与对照品色谱主峰相应位置上,有相同的色谱峰;阴性对照无干扰。色谱见图1。

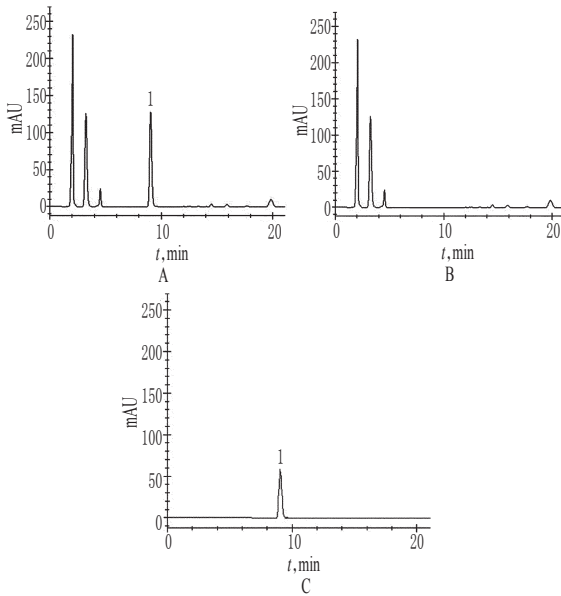


图1 高效液相色谱图

A.供试品; B.阴性对照; C.龙血素B对照品; 1.龙血素B

Fig 1 HPLC chromatograms

A. test sample; B. negative control; C. substance control; 1. loureirin B

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取对照品溶液0.5、2、8、16、25 ml,置于25 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件,分别精密吸取各溶液20 μl注入HPLC仪,记录峰面积。以峰面积积分值(A)对对照品质量浓度(c)进行线性回归,得回归方程为 $A=860\ 152.2c-1\ 600.5$ ( $r=0.999\ 5, n=5$ )。结果表明,龙血素B的质量浓度在0.40~20.00 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

取对照品溶液适量,按上述色谱条件连续进样测定6次,记录龙血素B峰面积。结果, $RSD=0.45\%$ ( $n=6$ ),表明仪器精密度较好。

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液适量,室温(20~25 ℃)下放置,于0、1、3、5、7、9、11、24 h分别按上述色谱条件进样测定,记录龙血素B峰面积。结果, $RSD=1.12\%$ ( $n=8$ ),表明供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:20130511)适量,共6份,分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录龙血素B峰面积,计算样品含量。结果,样品中龙血素B的平均质量分数为0.619%, $RSD=0.45\%$ ( $n=6$ ),表明本方法重复性较好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已测定含量的同一批样品6份,各约5.0 g,分别加入龙血素B对照品适量,按“2.1.1”项下方法制备供试品

溶液,再按上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=6$ )

序号	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x},\%$	RSD,%
1	5.012 1	30.756 2	30.000 0	60.893 4	100.46		
2	5.022 1	30.822 1	30.000 0	60.812 2	99.97		
3	5.034 5	30.864 2	30.000 0	61.189 2	101.08	100.50	1.90
4	5.066 8	30.921 5	30.000 0	60.899 4	99.93		
5	5.026 4	30.824 6	30.000 0	60.967 4	100.48		
6	5.087 3	30.967 5	30.000 0	61.297 6	101.10		

### 2.9 样品含量测定

精密称取3批样品各10.0 g,分别按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算样品中龙血素B的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples( $n=3$ )

批号	质量分数,%			$\bar{x},\%$	RSD,%
	1	2	3		
20130511	0.621	0.614	0.622	0.619	0.71
20130512	0.616	0.618	0.614	0.616	0.32
20130513	0.618	0.611	0.613	0.614	0.58

## 3 讨论

辽源七厘复方中药控释微丸共含13味中药,成分相当复杂,采用单一流动相无法达到最佳色谱分离条件。笔者经过多次摸索,选用甲醇-1%冰醋酸溶液为流动相进行梯度洗脱,可取得良好的分离效果。

将龙血素B对照品溶液在190~900 nm波长范围内进行紫外扫描,可得龙血素B的最大吸收波长为209 nm,其次为278 nm。为了保证方中各成分的紫外吸收互不干扰,最终确定最佳检测波长为206 nm。

综上所述,本改良方法操作简便、分离效果好、灵敏度高、重复性好,可用于辽源七厘复方中药控释微丸的质量控制。

### 参考文献

- [1] 郝秦.七厘散加减治疗腰腿痛的应用[J].黑龙江中医药,2009,37(4):54.
- [2] 陈玉柱,刘世君.改良七厘散外敷治疗腰椎间盘突出症60例[J].中医药临床杂志,2006,18(5):502.
- [3] 崔国权.中西医结合治疗骨折不愈合、延迟愈合22例[J].丹东医药,2008(4):33.
- [4] 童良春.七厘散结合高压氧治疗急性期手外伤疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2008,17(10):1510.
- [5] 毕玉林,王华,曹春启.特定电磁波治疗仪加七厘散治疗软组织伤66例体会[J].沈阳部队医药,2008,21(2):140.
- [6] 王兰珍,王继彩,张燕,等.血竭植物资源开发利用现状[J].时珍国医国药,2007,18(4):1017.
- [7] 李忠琼,向东.HPLC测定龙血竭中龙血素A和龙血素B的含量[J].华西药学杂志,2005,20(4):348.
- [8] 叶优苗.高效液相色谱法测定大七厘散中血竭素含量[J].中国药业,2008,17(11):35.
- [9] 李雪莹,武永刚.红花药材黄色素类成分的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2011,22(39):3707.

(收稿日期:2013-08-27 修回日期:2014-04-10)