

# 龙血素 B标准品的质量标准研究\*

## Studies of the Quality Standards of Loureirin B Standard Material

刘布鸣<sup>1</sup>, 卢文杰<sup>1</sup>, 莫建光<sup>2</sup>, 叶开富<sup>2</sup>, 林 霄<sup>1</sup>, 卢安根<sup>2</sup>, 陈家源<sup>1</sup>, 牙启康<sup>1</sup>  
 LIU Bu-ming<sup>1</sup>, LU Wen-jie<sup>1</sup>, MO Jian-guang<sup>2</sup>, YE Kai-fu<sup>2</sup>, LIN Xiao<sup>1</sup>, LU An-gen<sup>2</sup>,  
 CHEN Jia-yuan<sup>1</sup>, YA Qi-kang<sup>1</sup>

(1. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 2. 广西分析测试研究中心, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Analytical Testing and Research Center, Nanning, Guangxi, 530022, China)

**摘要:** 为了制定龙血素 B标准品的质量标准, 按照中国药典 2005年版的有关规定, 分析龙血素 B标准品的各项指标, 研究并制定龙血素 B标准品的质量标准。结果均符合中药化学标准品的技术要求, 制定了龙血素 B标准品的技术标准 (DB45/T548-2008), 用于龙血素 B标准品的质量控制。

**关键词:** 龙血素 B 标准品 质量标准

中图分类号: O657 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2009)01-0076-03

**Abstract** According to the Chinese Pharmacopoeia 2005 version, the indexes of Loureirin B Standard Material were analyzed. The results showed that the material meets the technical requirements of chemical standard materials of Chinese herbal medicines. On this basis, researches and developments of Loureirin B Standard Material were proceed, and the Quality Standard was established to control its quality.

**Key words** loureirin B, standard material, quality standard

龙血素 B(loureirin B)为查耳酮类化合物, 化学名 4-羟基-2, 4, 6-三甲氧基双氢查耳酮 (4-hydroxy-2, 4, 6-trimethoxy-dihydrochalcones), 分子式:  $C_{18}H_{20}O_5$ , 分子量: 316. 35, 化学结构如图 1

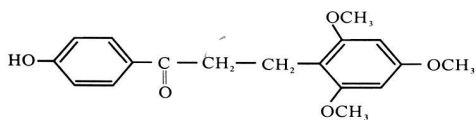


图 1 龙血素 B的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of loureirin B

龙血素 B是龙血竭及制剂的国家药品标准中规定作为指标性成分的标准对照物质<sup>[1,2]</sup>, 用以控制和评价药品质量。龙血竭为广西特色中药材, 具有活血化瘀、定痛止血、敛疮生肌等功效, 用于跌打损伤、瘀血作痛、妇女气血凝滞、外伤出血、脓疮久不收口等症<sup>[1]</sup>, 其主要成分含龙血素 B(loureirin B)<sup>[3,4]</sup>。有关龙血素 B标准品的质量标准未见文献报道, 我们在龙血素 B化学对照品研究基础上<sup>[5]</sup>, 研究并制定龙血素 B标准品的质量标准, 用于龙血素 B标准品的质量控制

## 1 实验部分

### 1.1 性状

无色针状结晶或白色结晶性粉末, 无臭, 无异味。易溶于甲醇、乙醇、氯仿, 难溶于水。熔点 (中华人民共和国药典 2005年版二部附录 VI C) 136~

收稿日期: 2008-07-09

作者简介: 刘布鸣 (1956-), 男, 研究员, 主要从事药物化学成分、质量标准与质量控制方法研究。

\* 广西科技攻关项目“广西大型科学仪器设备协作共用研究与应用 (桂科攻 0428011-4)”, 广西大型仪器协作共用网专项资金项目 (442-2007-021)”资助。

138°C。

## 1.2 鉴别

1.2.1 化学鉴别 取本品约 2mg 置试管中,加饱和硼酸的丙酮溶液 1ml 和 10% 枸橼酸丙酮溶液 1ml 使之溶解,摇匀,置水浴上蒸干,残渣置紫外光灯下检视,显较强的荧光

1.2.2 薄层色谱法 取本品约 2mg,加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。另取龙血素 B 标准对照品,加甲醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。按照薄层色谱法(中华人民共和国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 5~10 $\mu$ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上,以醋酸乙酯-石油醚(60~90°C)(3.5:6.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘蒸气中熏至斑点显色清晰,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点

1.2.3 紫外光谱法 取本品适量,加甲醇制成每 1ml 含 10 $\mu$ g 的溶液,照紫外-可见分光光度法(中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 IV A)测定,在 277 $\pm$ 1nm 波长处有最大吸收。

1.2.4 红外光谱法 本品的红外吸收光谱图应与龙血素 B 标准品的红外光谱图(图 2)一致(照中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 IV A 测定)。

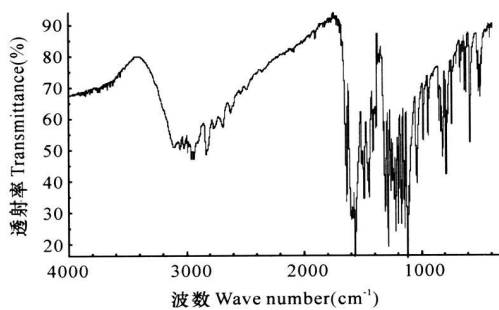


图 2 龙血素 B 的红外光谱标准图谱

Fig. 2 IR standard spectrum of loureirin B

## 1.3 检查

1.3.1 有关物质 取本品适量,加流动相(甲醇:水 = 60:40)制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为供试品溶液。精密量取供试品溶液适量,加流动相稀释制成每 1ml 含 1 $\mu$ g 的溶液,作为对照溶液。按照高效液相色谱法(中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 V D)测定。按照含量测定项下的色谱条件,取对照溶液 20 $\mu$ l 注入高效液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%,再精密量取供试品溶液与对照溶液各 20 $\mu$ l,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的

2.5 倍以上。供试品溶液的色谱图中如有杂质峰,各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积。用面积归一化法计算,除溶剂峰外,杂质峰面积总和不得大于 2.0%。

1.3.2 干燥失重 取本品,在 105°C 干燥至恒重,减失重量不得过 0.5% (中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 VIII L)。

1.3.3 炽灼残渣 不得过 0.1% (中华人民共和国药典 2005 年版二部附录 VIII N)。

## 1.4 含量测定

1.4.1 仪器与试剂 美国 Waters 515 UV 2487 液相色谱仪;甲醇为色谱纯,水为高纯水;龙血素 B 对照品(经四谱鉴定, HPLC 测定含量大于 99.0%),其它溶媒为分析纯

1.4.2 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱,以甲醇-水(60:40)为流动相;检测波长为 277nm。理论板数按龙血素 B 计算应不低于 5000。液相色谱如图 3 所示

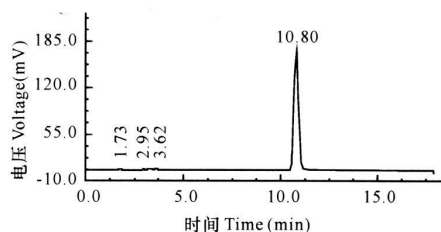


图 3 龙血素 B 的液相色谱

Fig. 3 HPLC chromatogram of loureirin B

1.4.3 外标法 (1)对照品溶液制备。精密称取龙血素 B 对照品 10.0mg,置 10ml 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液;精密量取储备液 1.0ml,置 50ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。(2)供试品溶液的制备。取本品 25.0mg,精密称定,置 50ml 容量瓶中,加流动相适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,备用;精密量取上述溶液 1ml,置 25ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,以 0.45 $\mu$ m 微孔滤膜滤过,即得。(3)测定方法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 $\mu$ l,注入高效液相色谱仪,按外标法计算龙血素 B 的百分含量

1.4.4 面积归一化法 取本品 25.0mg,精密称定,置 25ml 容量瓶中,加流动相适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1ml 含 1mg 的溶液,备用;以 0.45 $\mu$ m 微孔滤膜滤过,取过滤的溶液 20 $\mu$ l 注入高效液相色谱仪,按面积归一化法计算,除溶剂峰外,计算龙血素 B 的百分含量

表 1 不同批次龙血素 B 标准品主要指标测定结果

Table 1 The results of major indexes of loureirin B standard material of different batches

样品编号 No.	熔点 Melting point(°C)	化学鉴别 Chemical Identification	薄层色谱 TLC	紫外光谱 UV spectra (nm)	红外光谱 IR spectra	有关物质 Related substances	干燥失重 Loss on drying(%)	炽灼残渣 Burn residue(%)	含量 Content (%)
1	137.3	呈正反应 Positive reaction	检出龙血素 B Detecting loureirin B	277.1	与标准图一致 Agreement with standard drawing	符合规定 Conforming to prescribed	0.1	0.03	99.94
2	137.1	呈正反应 Positive reaction	检出龙血素 B Detecting loureirin B	277.3	与标准图一致 Agreement with standard drawing	符合规定 Conforming to prescribed	0.1	0.04	99.91
3	136.7	呈正反应 Positive reaction	检出龙血素 B Detecting loureirin B	277.0	与标准图一致 Agreement with standard drawing	符合规定 Conforming to prescribed	0.2	0.06	98.87
4	137.0	呈正反应 Positive reaction	检出龙血素 B Detecting loureirin B	277.4	与标准图一致 Agreement with standard drawing	符合规定 Conforming to prescribed	0.1	0.05	99.01
5	136.1	呈正反应 Positive reaction	检出龙血素 B Detecting loureirin B	277.5	与标准图一致 Agreement with standard drawing	符合规定 Conforming to prescribed	0.2	0.03	99.03

1.4.5 含量计算 同一样品两次平行测定结果之差,不得超过平均值的 5%。外标法和面积归一化法含量测定方法含量均应大于 98.0%。

1.4.6 方法学考察 (1)线性关系。精密称取 105°C 干燥至恒重的龙血素 B 标准品 10mg,加流动相溶解,定量转移至 100ml 量瓶中,加流动相至刻度,制成 100 $\mu$ g/ml 的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1.0ml 2.0ml 3.0ml 4.0ml 5.0ml 6.0ml,置 10ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取 10 $\mu$ l,按上述色谱条件注入色谱仪,测定峰面积值,以峰面积值为纵坐标,进样量 ( $\mu$ g) 为横坐标,求得标准曲线回归方程为:  $Y(\text{峰面积}) = 61491X(\text{进样量}) + 15723$ , 相关系数  $r = 0.9999$  结果在 10~60 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系。(2)精密度试验。取同一样品重复进样 6 次,测定龙血素 B 峰面积的  $RSD$  为 0.73% ( $n = 6$ ),表明精密度良好。(3)稳定性试验。取同一供试品,在室温下放置不同时间后,重复进样 6 次,测得龙血素 B 峰面积的  $RSD$  为 0.81% ( $n = 6$ ),表明溶液稳定性良好。(4)重复性试验。取同一批样品 6 份,按含量测定法测定,平均含量为 99.56%,  $RSD$  为 0.35% ( $n = 6$ ),表明重复性良好。

## 2 样品测定

按制定的质量标准对不同批次的样品进行分析测定的结果(表 1)符合规定。

## 3 结论

根据研究与各项指标测定结果,参照中国药

典<sup>[6,7]</sup>以及中药化学对照品的技术要求<sup>[8]</sup>,制定了龙血素 B 标准品的技术标准(DB45/T 548-2008),用于龙血素 B 标准品的质量标准:供含量测定用的龙血素 B 标准品含量 > 98.0%、有关物质 < 2.0%;供鉴别用的含量 > 95.0%、有关物质 < 5.0%。该标准各项技术指标科学合理,可操作性强,规范了龙血素 B 标准品的质量,为其相关产品的质量控制在提供了技术保障。

### 参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 国家标准[S]. WS3-082(Z-016)-99(Z).
- [2] 国家药品监督管理局. 国家标准[S]. WS3-B-2541-2001.
- [3] 卢文杰,王雪芬,陈家源,等. 剑叶龙血树氯仿部位化学成分的研究[J]. 药学学报, 1998, 33(10): 755.
- [4] 文东旭. 龙血竭的研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(11): 1053.
- [5] 刘布鸣,卢文杰,陈家源,等. 龙血素 B 化学对照品的研究[J]. 广西科学, 2006, 13(2): 133.
- [6] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [7] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [8] 陈德昌. 中药化学对照品工作手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000.

(责任编辑: 邓大玉)