

[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(2): 355-359; 327.

[8] Xia L, Li B B, Lu Y, *et al.* Structural characterization and anticomplement activity of an acidic polysaccharide containing 3-*O*-methyl galactose from *Juniperus tibetica* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 1244-1251.

[9] 师景双, 袁 超, 程月红, 等. 水提醇沉法提取蛹虫草多糖的工艺优化及体外抗氧化效果研究[J]. 食品与药品, 2020, 22(2): 124-129.

[10] 来永斌, 王 琦, 孙 月. 蛹虫草多糖含量的测定与分析[J]. 中成药, 2001, 23(7): 51-52.

[11] He Z, Li X, Chen Z Y, *et al.* Decolorization and antioxidant assay of polysaccharide from white wax scale using macroporous resin[J]. *Forest Res*, 2014, 27(1): 31-37.

[12] Shi Y Y, Liu T T, Han Y, *et al.* An efficient method for decoloration of polysaccharides from the sprouts of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem by anion exchange macroporous resins [J]. *Food Chem*, 2017, 217: 461-468.

[13] Cheng X H, Cheng Y W, Zhang N J, *et al.* Purification of flavonoids from *Carex meyeriana* Kunth based on AHP and RSM: Composition analysis, antioxidant, and antimicrobial activity[J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 157: 112900.

[14] Wang R S, Sun J F, Jin M, *et al.* Two new phenolic glycosides with anti-complementary activity from the roots of *Sanguisorba officinalis* L[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 35(22): 4423-4432.

[15] Hu Z Y, Zhou H L, Li Y P, *et al.* Optimized purification process of polysaccharides from *Carex meyeriana* Kunth by macroporous resin, its characterization and immunomodulatory activity[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 76-86.

[16] Wang Y F, Shu X, Chen Y Y, *et al.* Enrichment, purification and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* macrolichen [J]. *Biochem Eng J*, 2018, 130: 10-20.

[17] Desbrieres J. Viscosity of semiflexible chitosan solutions: Influence of concentration, temperature, and role of intermolecular interactions [J]. *Biomacromolecules*, 2002, 3(2): 342-349.

[18] 刘 伟, 刘倩楠, 张 良, 等. 草莓多糖树脂法脱色工艺优化及其化学性质研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 38-46; 51.

[19] 张春燕, 吴美儒, 周毅峰, 等. 利用大孔树脂对莼菜多糖脱色的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 154-157; 164.

HPLC 法同时测定不同厂家断血流制剂中 3 种成分

田京歌, 倪 倩, 周娟娟, 冯有龙
(江苏省药品监督管理局, 江苏 南京 210019)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定断血流软胶囊、胶囊、片剂中香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 的含量。**方法** 该药物 75% 乙醇提取液的分析采用 Agilent 5 TC-C₁₈₍₂₎ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 250、283、330 nm。**结果** 香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 分别在 10.39~103.9、10.50~105.0、9.985~99.85 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率分别为 99.37%、99.73%、100.31%, RSD 分别为 1.11%、1.20%、1.43%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于断血流制剂的质量控制。

关键词: 断血流软胶囊; 断血流胶囊; 断血流片; 香蜂草苷; 蒙花苷; 醉鱼草皂苷Ⅳb; HPLC

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)06-1978-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.038

断血流为唇形科植物荫风轮或风轮菜的干燥地上部分^[1], 功效清热解毒、凉血止血活血, 其化学成分主要有黄酮、皂苷、挥发油等。研究表明, 断血流醇提物有小剂量止血、大剂量活血的双向作用, 其代表性成分是黄酮、皂苷^[2-4]; 文献 [5-6] 报道, 不同产地该植物中总黄酮含量为 2.09%~2.32%, 总皂苷含量为 1.29%~2.13%。

目前, 断血流相关制剂主要有胶囊剂、片剂、颗粒剂等, 但其质量控制标准仅以醉鱼草皂苷Ⅳb 为指标^[1,7-8], 并且相关文献对其皂苷类成分的研究较多, 鲜有涉及黄酮类成分。因此, 本实验首次对断血流软胶囊、胶囊、片剂中香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 含量同时进行测定, 以期为该类药物全面质量控制研究提供参考。

收稿日期: 2022-06-25
基金项目: 江苏省市场监管局 2020 年度第 2 批科技计划项目 (KJ204121)
作者简介: 田京歌 (1988—), 男, 硕士, 主管药师, 从事药品检验与质量研究。Tel: (025) 86251210, E-mail: tianjingge2011@163.com

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；BS21S 型电子天平（北京赛多利斯天平有限公司）。

1.2 试剂与药物 醉鱼草皂苷Ⅳb（批号 110782-200602，纯度 99.5%）、蒙花苷（批号 111528-201710，纯度 96.6%）对照品均购于中国食品药品检定研究院；香蜂草苷（批号 J5690010，纯度>98%）对照品购于上海安谱实验科技股份有限公司。断血流软胶囊购于江苏康缘药业股份有限公司；断血流胶囊、片剂均购于药店。甲醇、乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent 5 TC-C₁₈₍₂₎ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-水（B），梯度洗脱（0~5 min，40% A；5~30 min，40%~50% A；30~40 min，50% A；40~65 min，50%~90% A；65~73 min，90% A）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；检测波长 283 nm（香蜂草苷）、330 nm（蒙花苷）、250 nm（醉鱼草皂苷Ⅳb）；进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 供试品溶液 取软胶囊 10 粒，倾出内容物混匀，精密称取 0.25 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 75% 乙醇 20 mL，称定质量，水浴加热回流 30 min，放冷，75% 乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

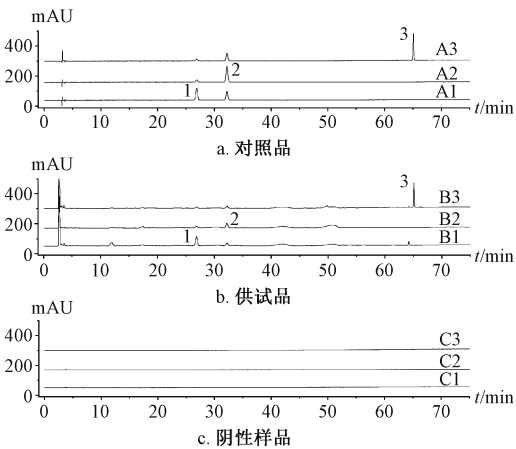
2.2.2 对照品溶液 精密称取香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb（置于盛有五氧化二磷的减压干燥器中干燥 12 h）对照品适量，75% 乙醇制成质量浓度分别为 1.039、1.050、0.998 5 mg/mL 的溶液，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 取不含断血流的阴性样品适量（辅料基质），按“2.2.1”项下方法制备，即得。

2.3 专属性试验 精密量取对照品、供试品、阴性样品溶液各 10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，阴性无干扰，主峰保留时间分别在 27、32、65 min 左右，理论塔板数按醉鱼草皂苷Ⅳb 峰计均大于 3 000，表明该方法专属性良好。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量，置于 10 mL 量瓶中，75% 乙醇稀释成分别含香蜂草苷 10.39、20.78、31.17、41.56、51.95、103.9 μg/mL，蒙花苷 10.50、21.00、31.50、42.00、52.50、105.0 μg/mL，醉鱼草皂苷Ⅳb 9.985、19.97、29.95、39.94、49.92、99.85 μg/mL 的溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得到回归方程分别为香蜂草苷 $Y = 17.335\ 9X + 2.463\ 2$ （ $r = 0.999\ 9$ ），在 10.39~103.9 μg/mL 范围内线性关系良好；蒙花苷 $Y = 23.364\ 9X - 3.337\ 1$ （ $r = 0.999\ 9$ ），在 10.50~105.0 μg/mL 范围内线性关系良好；醉鱼草皂苷Ⅳb $Y = 16.641\ 4X + 10.184\ 3$ （ $r = 0.999\ 9$ ），在 9.985~99.85 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取同一份供试品溶液，在“2.1”项色



注：A1、B1、C1 检测波长为 283 nm，A2、B2、C2 检测波长为 330 nm，A3、B3、C3 检测波长为 250 nm。

1. 香蜂草苷 2. 蒙花苷 3. 醉鱼草皂苷Ⅳb

图 1 各成分 HPLC 色谱图

谱条件下进样测定 6 次，测得香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 峰面积 RSD 分别为 1.37%、1.28%、1.27%，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取软胶囊 6 份，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 含量 RSD 分别为 1.78%、1.64%、1.61%，表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液，室温（25℃）下于 0、2、4、6、8、10、12 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 峰面积 RSD 分别为 1.41%、1.75%、1.81%，表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 取各成分含量已知的软胶囊 6 份，每份约 0.125 g，精密称定，精密加入适量对照品，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 1。

2.9 耐用性试验 取同一份供试品溶液，在不同柱温（25、35℃）、体积流量（0.9、1.1 mL/min）、流动相比（38：62~42：58）、色谱柱 [Agilent 5 TC-C₁₈₍₂₎、Phenomenex Luna C₁₈₍₂₎、Waters Symmetry C₁₈] 下，测得香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 含量 RSD 分别为 1.20%、1.94%、1.01%，表明该方法耐用性良好。

2.10 样品含量测定 取不同厂家样品，按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 2。

3 讨论

3.1 提取方法选择 本实验考察了不同提取溶剂（甲醇、50% 乙醇、75% 乙醇、乙醇）、提取方式（超声、水浴回流）、提取时间（30、60、90 min），最终确定提取条件为 75% 乙醇水浴回流提取 30 min。

3.2 流动相选择 本实验考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 磷酸、乙腈-0.1% 磷酸，发现以甲醇-水洗脱时各成分

表 1 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
香蜂草苷	0.121 6	0.790 6	0.817 7	1.612 3	100.48	99.37	1.11
	0.123 9	0.805 6	0.817 7	1.618 5	99.41		
	0.125 8	0.818 0	0.817 7	1.650 3	98.02		
	0.124 4	0.808 9	0.817 7	1.626 6	100.01		
	0.124 5	0.809 5	0.817 7	1.611 2	98.04		
	0.124 6	0.810 2	0.817 7	1.630 2	100.28		
蒙花苷	0.121 6	0.317 9	0.325 0	0.641 8	99.66	99.73	1.20
	0.123 9	0.324 0	0.325 0	0.652 0	100.95		
	0.125 8	0.328 9	0.325 0	0.647 2	97.93		
	0.124 4	0.325 3	0.325 0	0.649 6	99.80		
	0.124 5	0.325 5	0.325 0	0.647 1	98.95		
	0.124 6	0.325 8	0.325 0	0.654 3	101.08		
醉鱼草皂苷Ⅳb	0.121 6	0.871 8	0.889 9	1.776 6	101.67	100.31	1.43
	0.123 9	0.888 3	0.889 9	1.775 5	99.69		
	0.125 8	0.901 9	0.889 9	1.799 0	100.80		
	0.124 4	0.891 9	0.889 9	1.800 4	102.09		
	0.124 5	0.892 6	0.889 9	1.769 6	98.55		
	0.124 6	0.893 3	0.889 9	1.775 0	99.07		

表 2 各成分含量测定结果 [mg/粒 (片), $\bar{x}\pm s$, n=3]

制剂	厂家	香蜂草苷	蒙花苷	醉鱼草皂苷Ⅳb
断血流软胶囊	江苏康缘药业股份有限公司	4.22±0.08	1.70±0.03	4.66±0.07
断血流胶囊	吉林省银诺克药业有限公司	5.74±0.06	1.20±0.02	2.24±0.04
断血流胶囊	江西银涛药业有限公司	12.57±0.23	1.37±0.02	1.71±0.02
断血流胶囊	江苏晨牌药业集团股份有限公司	13.61±0.25	1.67±0.03	2.49±0.02
断血流胶囊	长春银诺克药业有限公司	4.55±0.08	0.97±0.02	2.07±0.04
断血流胶囊	芜湖张恒春药业有限公司	11.57±0.17	1.40±0.02	1.57±0.03
断血流胶囊	吉林敖东集团力源制药股份有限公司	8.70±0.07	1.42±0.02	1.89±0.02
断血流片	安庆回音必制药股份有限公司	4.80±0.02	1.50±0.01	2.06±0.02

分离度较好，色谱柱损耗小，易于配制，故以其为流动相。

3.3 检测波长选择 本实验对各成分对照品溶液进行紫外吸收全波长扫描，最终分别以 283、330、250 nm 为检测波长。

3.4 含量分析 不同厂家断血流制剂中各成分含量差异较大，以香蜂草苷最明显。另外，除了软胶囊外其余厂家样品中香蜂草苷含量均大于醉鱼草皂苷Ⅳb，蒙花苷含量均不低于醉鱼草皂苷Ⅳb 含量的一半。

4 结论

断血流制剂具有多种药理活性^[3-4,9]，临床上广泛用于治疗出血性症状^[10-12]，黄酮类成分作为该类制剂含量较高的物质，有可能成为其质量控制指标之一。本实验建立 HPLC 法同时测定断血流软胶囊、胶囊、片剂中香蜂草苷、蒙花苷、醉鱼草皂苷Ⅳb 含量，该方法简便准确，重复性好，可为全面提高该类制剂质量控制标准提供实验依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 340.

[2] 陈靖宇. 风轮菜属植物荫风轮和风轮菜的有效成分研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 1997.

[3] 朱海琳, 孟兆青, 丁 岗, 等. 断血流的研究进展[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2013, 15(9): 2002-2010.

[4] 刘 遥, 刘丽敏, 熊远根, 等. 风轮菜属植物研究进展

[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(18): 4349-4357.

[5] 年四辉, 刘丽敏, 廖启元, 等. 断血流及其制剂中总黄酮的含量测定研究[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(4): 37-38.

[6] 咎丽霞. 超声提取-分光光度法测定断血流总皂苷含量[J]. 西北大学学报 (自然科学版), 2007, 37(6): 1016-1018.

[7] 王振中, 周恩丽, 徐连明. HPLC 测定断血流软胶囊中断血流皂苷 A 的含量[J]. 中成药, 2008, 30(11): 1726-1727.

[8] 林凡友, 孙永喜, 陈仁燕. HPLC 法测定断血流口服液中断血流皂苷 A 的含量[J]. 药学研究, 2020, 39(9): 517-519.

[9] Zhang H J, Chen R C, Sun G B, *et al.* Protective effects of total flavonoids from *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Ktze on myocardial injury *in vivo* and *in vitro* via regulation of Akt/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Phytomedicine*, 2018, 40: 88-97.

[10] 张冬玲, 何枢衡, 黄 雁, 等. 基于系统药理学分析断血流治疗出血性疾病的机制[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(6): 839-845.

[11] 李 征. 改良 B-Lynch 缝合术联合断血流颗粒治疗剖宫产术后出血疗效观察[J]. 新乡医学院学报, 2017, 34(5): 402-404.

[12] 刘丽娜, 危娟萍, 赖春红. 米非司酮联合断血流对药物流产后的孕妇进行预防性治疗的临床研究[J]. 药品评价, 2019, 16(21): 70-71.