

HPLC 测定花蛇解痒胶囊中蛇床子素的含量

陆春宁¹, 梁艺坚¹, 曹耘¹, 潘彬¹, 陆玮¹, 廖伟成¹, 刘雪梅^{2*}

(1. 广西梧州三鹤药业有限公司, 广西 梧州 543002; 2. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定花蛇解痒胶囊中蛇床子素的含量方法。方法: 采用高效液相色谱法, Phenomenex Synergi C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 4 μm), 乙腈-水(62:38)为流动相, 检测波长 322 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温室温。结果: 蛇床子素在 0.077 ~ 0.772 μg 线性关系良好($r=0.9999$), 平均加样回收率为 105.0%, RSD 1.5% ($n=6$)。结论: 该方法操作简便, 结果准确可靠, 可作为花蛇解痒胶囊中蛇床子素的含量测定方法。

[关键词] 花蛇解痒胶囊; 蛇床子素; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0098-03

[doi] 10.11653/syjf2013120098

Determination of Osthole in Huashe Jieyang Capsule by HPLC

LU Chun-ning¹, LIANG Yi-jian¹, CAO Yun¹, PAN Bin¹, LU Wei¹, LIAO Wei-cheng¹, LIU Xue-mei^{2*}

[收稿日期] 20120710(017)

[基金项目] 广西财政厅“自治区中小企业发展专项资金”项目(桂财企[2012]60号)

[第一作者] 陆春宁, 执业药师, 助理工程师, 从事民族药、优势中成药新药开发研究, Tel: 0774-3905607, E-mail: len1996@163.com

[通讯作者] * 刘雪梅, 硕士, 副教授, 从事民族药、优势中成药新药开发研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: lenarecome@yahoo.com.cn

标准, 能提供更全面的质量控制信息。另外根据聚类分析结果, 可将所有药材分为 II 类, 主要化学成分种类差异不大, 而峰面积则存在较大差异, 与地锦草的样品品种无关, 但与产地存在一定相关性, 其质量存在着地域性的差异, 怀疑不同的地域环境、土壤环境和气候差异是导致地锦草品质之间的差异的主要原因, 环境与品质的相关性有待于进一步研究分析。本实验证明该方法稳定、可靠, 重复性好, 为地锦草的质量评价及控制提供了参考依据, 同时也可作为地锦草主成分制剂指纹图谱研究的基础。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 118.
[2] 国家中医药管理局. 中华本草. 第 4 册[M]. 上海: 上海出版社, 1999: 3576.
[3] 安惠霞, 李治建, 古丽娜·达吾提, 等. 地锦草的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12): 2866.
[4] 杜艳, 丁红, 韩奋. 地锦草滴丸的制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 33.
[5] Fei D, Na T, Jun X, et al. New dpyrrolidinonoids and glycosides from *Euphorbia humifusa* [J]. J Asi Nat Prod Res, 2008, 10(6): 531.

[6] Yoshiaki A, Keita K, Tsutoma H, et al. Four new hydrolyzable tannins and an acylated flavonol glycoside from *Euphorbia maiculata* [J]. Canadian J Chem, 1997, 75(6): 727.
[7] 柳润辉, 孔令义. 地锦草脂溶性成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(4): 437.
[8] 张伟, 卢引, 顾雪竹, 等. 地锦草挥发性成分的 HS-SPME-GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 66.
[9] 张国庆, 冯文茹, 米沙. 地锦草乙醇提取物对白色念珠菌性阴道炎大鼠模型的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 191.
[10] 雷鹏, 刘韶, 李新中, 等. HPLC 测定地锦草中槲皮素、山柰素的含量[J]. 中药材, 2005, 28(8): 666.
[11] 李慧, 许亮, 徐保利, 等. HPLC 测定地锦草中没食子酸、槲皮素及山柰素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 100.
[12] 詹雪艳, 史新元, 段天璇. 色谱指纹图谱相似度方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 248.
[13] 刘万仓, 孙磊, 于孟琦, 等. 中药指纹图谱模式识别研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2010, 37(6): 446.

[责任编辑 顾雪竹]

(1. Guangxi Wuzhou Sanhe Pharmaceutical Co. LTD., Wuzhou 543002, China;

2. Faculty of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] Objective: To establish a HPLC method for determining osthole in Huashe Jieyang capsule.

Method: The Phenomenex Synergi C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 4 μm) was used with acetonitrile-water (62:38) as mobile phase. The UV detection wavelength was set at 322 nm and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Column temperature was set at ambient temperature. **Result:** A good linearity was obtained as the content of osthole within the range of 0.077-0.772 μg (*r*=0.999 9) and the average recovery rate (*n*=6) was 105.0% with RSD 1.5%. **Conclusion:** The method is simple, available, reliable and accurate, so can be used to control the content of osthole in Huashe Jieyang capsule.

[Key words] Huashe Jieyang capsule; osthole; HPLC

花蛇解痒胶囊是广西梧州三鹤药业公司独家产品,源于瑶族民间验方,根据传统中医理论配伍研制而成,具有祛风清热、凉血止痒之功,主要用于风热血热症之风瘙痒(皮肤瘙痒症)。收载于国家药品标准 WS-10651(ZD-0651)-2002-2011Z,由乌梢蛇、全蝎、牡丹皮、赤芍、黄柏、蛇床子、荆芥、连翘等 16 味药组成。其中,蛇床子为方中主药,性温、味辛苦,外用燥湿杀虫,内服温肾壮阳、祛风燥湿。其活性成分蛇床子素的含量直接关系到胶囊剂的质量。目前该胶囊剂的质量标准中无蛇床子的含量测定项目。为了更好控制其质量,保证临床疗效,本试验参照文献建立了 HPLC 测定花蛇解胶囊中蛇床子素的含量方法,为其质量标准的制定提供依据。

1 材料

岛津 LC-10AT, LC-20AD 型高效液相色谱仪,北京赛多利斯 BP211D 型电子分析天平。

蛇床子素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110822-200305);花蛇解痒胶囊由广西梧州三鹤药业有限公司提供(批号 100901,101001,101201 等 10 批,规格每粒装 0.35 g);乙腈、甲醇为色谱纯;水为纯化水;其他化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex Synergi C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 4 μm),流动相乙腈-水(62:38),检测波长 322 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温,进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

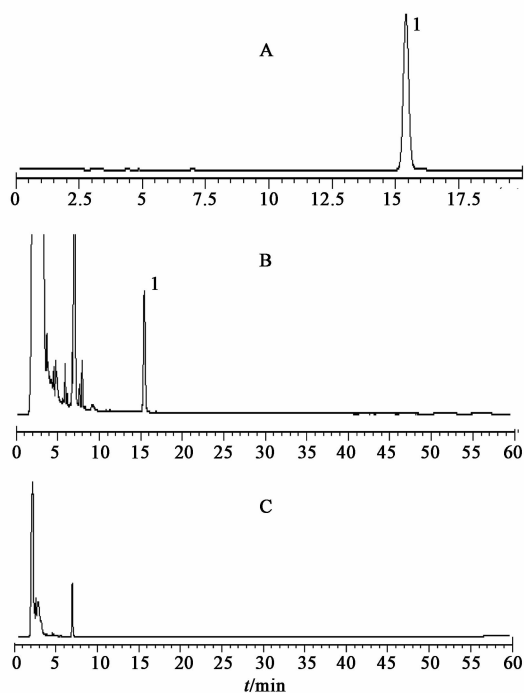
2.2.1 供试品溶液 取本品内容物 2 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,密塞,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.2 阴性对照溶液 取缺蛇床子的阴性样品 2 g,

按 2.2.1 项供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.3 对照品溶液 精密称取蛇床子素对照品适量,置量瓶中,加入甲醇溶液制成每 1 mL 含蛇床子素 30 μg 的溶液,即得。

2.3 系统专属性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。由图 1 可见,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,有相同保留时间,阴性对照溶液在蛇床子素峰位置无干扰峰,蛇床子素与其他组分的分离良好。



A. 蛇床子素对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 蛇床子素

图 1 花蛇解痒胶囊 HPLC

2.4 线性关系的考察 精密称取蛇床子素对照品 10.72 mg, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇

匀,即得 428.8 mg·L⁻¹溶液①。精密吸取上述对照品溶液 9.0 mL 置 50 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 77.184 mg·L⁻¹溶液②;精密吸取溶液②分别制成 7.718 4, 23.155 2, 38.592, 54.028 8, 77.184 mg·L⁻¹的系列溶液,注入色谱仪,按上述色谱条件测定色谱峰面积,以对照品的进样量(μg)为横坐标(X),峰面积积分为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得标准曲线方程 $Y = 4 \times 10^6 X - 12\ 998$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明蛇床子素进样量在 0.077 ~ 0.772 μg 具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取同一对照品溶液(29.424 mg·L⁻¹),按 2.1 色谱条件下连续进样 5 次,进样 10 μL,测得蛇床子素峰面积积分值的 RSD 0.1%,表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 110602),分别于 0,1,2,6,8,12 h 进样,测定其峰面积,RSD 0.5%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取 6 份供试品(批号 110602),平行操作,测定蛇床子素的含量。结果每 1 g 含蛇床子素为 0.24 mg, RSD 0.9%,表明方法重复性良好。

2.8 回收率试验 精密称定 6 份已知含量的供试品各 2 g(批号 110602,每 1 g 含蛇床子素为 0.24 mg),各精密加入 490.4 mg·L⁻¹蛇床子素对照品溶液 1 mL,依法测定含量并计算回收率,结果见表 1。

表 1 蛇床子素回收率测定

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
2.031 2	0.486 5	0.490 4	0.997 9	104.3		
1.992 4	0.477 2	0.490 4	0.981 7	102.9		
2.011 9	0.481 9	0.490 4	0.990 9	103.8	105.0	1.5
2.021 2	0.484 1	0.490 4	1.003 1	105.8		
2.018 7	0.483 5	0.490 4	1.006 0	106.6		
2.033 3	0.487 0	0.490 4	1.009 8	106.6		

2.9 样品含量测定 取 10 批花蛇解痒胶囊样品,按 2.2.1 供试品溶液的制备方法,每个批号平行制备 2 份,依法测定并计算蛇床子素的含量,结果见表 2。

3 讨论

3.1 波长的选择 蛇床子素的紫外扫描显示蛇床子素分别在 211,322 nm 处有最大吸收峰,经过比较,结果在 322 nm 波长处色谱峰干扰小,峰形对称,基线平稳,故选择 322 nm 作为检测波长。

表 2 样品中蛇床子素含量(n=2)

批号	蛇床子素含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
100901	0.28	0.9
101001	0.23	0.4
101201	0.26	0.6
110101	0.28	0.7
110202	0.30	0.7
110301	0.19	0.8
110501	0.28	0.4
110601	0.19	0.8
110603	0.23	0.7
110602	0.24	0.9

3.2 流动相的选择 分别选用不同比例的甲醇-水^[1-4],甲醇-硫酸铵^[5-6],甲醇-水-磷酸^[7],乙腈-水^[8-12]作为流动相进行试验,最后选择乙腈-水(62:38)为流动相,可以使蛇床子素与其他成分很好地分离,峰型理想,且阴性对照无干扰。

[参考文献]

- [1] 沙拉麦提·艾力,凯赛尔·阿不拉.复方卡力孜然酞质量标准的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(13):77.
- [2] 刘倩,栗芬琴,栗德蕾.HPLC法测定骨筋丸胶囊中蛇床子素的含量[J].中国当代医药,2010,17(23):36,78.
- [3] 孙晓丹.高效液相色谱法测定妇炎平栓蛇床子素的含量[J].现代医药卫生,2010,26(2):165.
- [4] 曹霞斐,周琳.高效液相色谱法测定独活寄生丸中蛇床子素的含量[J].中国实用医药,2010,5(9):36.
- [5] 蔡俊安,王粉.高效液相色谱法测定大风丸中蛇床子素的含量[J].中国中医药信息杂志,2009,16(8):47.
- [6] 李玉兰,高美华.HPLC同时测定独活中蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量[J].中国医药指南,2010,8(19):59.
- [7] 杨曼,李鹏.高效液相色谱法测定复方苦参子洗液中蛇床子素含量[J].中国药业,2011,20(5):34.
- [8] 顾政一,刘砥威,邢建国,等.阿娜尔妇洁阴道泡腾片质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):74.
- [9] 李华荣,高逢喜,孙鑫.HPLC法测定妇舒能洗剂中蛇床子素的含量[J].中国药师,2010,13(8):1130.
- [10] 王鲁妹,杨轲.HPLC测定妇康胶囊中蛇床子素的含量[J].农垦医学,2010,32(1):35.
- [11] 范永春.乳欣安胶囊质量标准研究[J].中成药,2010,32(5):786.
- [12] 余小平.高效液相色谱法测定复方独活咧噪美辛胶囊中蛇床子素的含量[J].中华中医药学刊,2009,27(7):1543.

[责任编辑 顾雪竹]