

高效液相色谱法测定雪胆素片中雪胆素甲的含量

苏 健

(昆明市食品药品检验所, 云南昆明 650032)

摘要: 目的 测定雪胆素片中雪胆素甲的含量。方法 采用高效液相色谱法, 色谱条件为: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 乙腈-水(40:60)为流动相, 柱温为 25℃, 流速为 1 mL·min⁻¹, 紫外检测波长为 212 nm。结果 所测定的 10 批雪胆素片中雪胆素甲的平均含量为 104.61%。结论 该法简便易行, 灵敏度高, 重现性好, 可用于雪胆素片的质量控制。

关键词: 雪胆素片; 雪胆素甲; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2014)02-0021-03

“雪胆素片”是云南省在上世纪 80 年代初从彝族药物“罗锅底”开发的成药制剂, 收载于《卫生部药品标准》^[1], 具有清热解毒, 抗菌消炎之功效, 用于菌痢、肠炎、支气管炎、急性扁桃体炎等^[2]。其药效物质是从罗锅底 *Hemsleya maerosperma* C.Y.Wu 等葫芦科雪胆属植物中提取的“雪胆素”, 主要含有三萜类成分雪胆素甲(Cucurbitacin IIa)和雪胆素乙(Cucurbitacin IIb)^[3]。

在“雪胆素片”及其原料药“雪胆素”现行标准中, 其质量控制项的定量测定部分采用的是分光光度法测定雪胆素甲的含量。随着药品安全要求的提高和药品质量控制技术的发展, 该方法已经不能适应目前行业发展需求。经过较为系统的研究, 我们建立了一种测定雪胆素片中雪胆素甲含量的高效液相色谱方法, 可用于雪胆素及其制剂的质量控制。

1 仪器与材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), HPLC 1100 ChemStation 工作站; AEG-45SM 型百万分之一分析天平(日本岛津公司); 上海 Branson B3200S 超声清洗器; 依利特色谱柱(Kromasil C₁₈ 填料, 4.6×150 mm, 5 μm)。对照品雪胆素甲由中国食品药品检定研究院提供(编号 111518)。流动相用乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。雪胆素片药品为昆明宇斯药业有限责任公司产品。

2 方法与结果

2.1 测定条件

2.1.1 色谱条件

经过优选的色谱条件如下: 色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 柱温 25℃; 流动相用乙腈-水的混合溶液(40:60), 流速 1 mL/min, 检测波长 212 nm, 进样量 10 μL。理论板数以雪胆素甲峰计算不低于 6 000。在此条件下(图 1), 雪胆素甲对照品

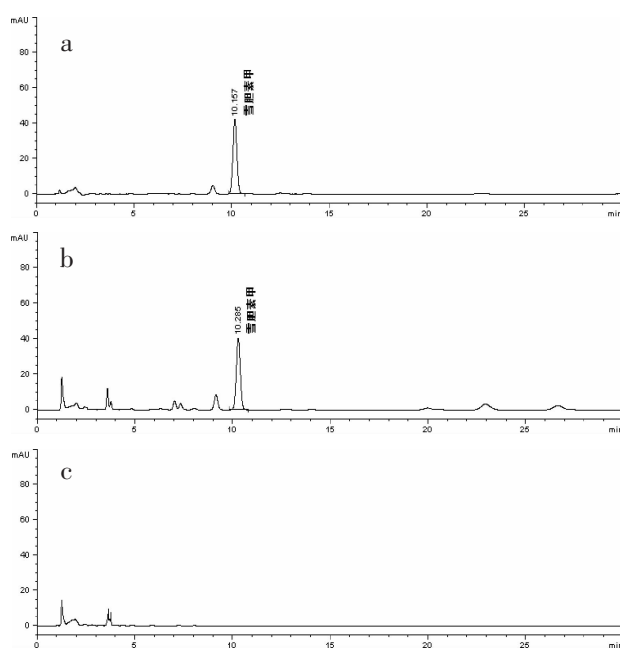


图 1 雪胆素甲(a)、雪胆素片(b)、阴性对照样品(c)的高效液相色谱

收稿日期: 2014-01-13

作者简介: 苏健(1972-), 男, 云南昆明人, 副主任药师, 主要从事药品质量检验与标准研究。

峰的拖尾因子为 0.99,雪胆素片样品中雪胆素甲和邻近峰分离大于 2.0,阴性对照样品无干扰,符合药品分析的一般技术要求。

2.1.2 检测波长确定

取雪胆素甲对照品以甲醇溶解,以甲醇作空白对照在 200~400nm 波长范围扫描紫外吸收,结果在 212nm 波长处有最大吸收,故选择 212nm 为检测波长,结果见图 2。

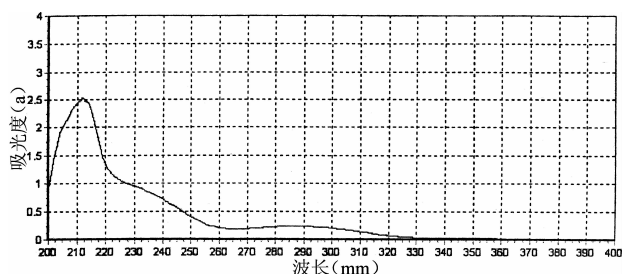


图 2 雪胆素甲紫外吸收曲线

2.2 对照品溶液制备

精密称取经五氧化二磷减压干燥至恒重的雪胆素甲对照品适量,加甲醇溶解制成每 1mL 含 0.2mg 的溶液,临用时用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 供试品溶液制备

取雪胆素片,研细,取约 0.7g,精密称定,精密加入甲醇 25mL,称定重量,超声处理 10min,放冷,用甲醇补足减失重量,摇匀,滤过,取续滤液,临用时用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系的考察

按上述方法制备雪胆素甲对照品溶液,浓度为 0.242mg/mL,分别精密量取对照品溶液 1 μ L,2 μ L,5 μ L,10 μ L,15 μ L,20 μ L,25 μ L,按上述色谱条件进样测定,以进样量(μ g)为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y)进行线性回归处理,回归方程为 $Y=246.53X+9.0096$, $r=0.9999$ ($n=7$)。结果表明,雪胆素甲在进样量 0.242~6.05 μ g 之间与峰面积呈良好线性关系,结果见表 1。

表 1 线性关系考察

进样量/ μ g	0.242	0.484	1.21	2.42	3.63	4.84	6.05
峰面积积分值	61.69	129.00	316.01	607.73	901.12	1197.18	1503.91

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μ L,按上述色谱条件,

连续进样 6 次,测得峰面积积分值的平均值为 605.26,RSD 为 0.36%($n=6$),结果见表 2。

表 2 精密度实验

进样次数	1	2	3	4	5	6
峰面积积分值	604.92	605.80	602.44	604.55	608.99	604.88

2.6 稳定性试验

取同一批号雪胆素片(20120902),依法制成供试品溶液,按上述色谱条件测定 7 次,每次间隔 4h,测得峰面积积分值平均值为 592.63,RSD 为 1.52%($n=7$)。结果表明,样品在 24h 内稳定,结果见表 3。

表 3 稳定性实验

测定次数	1	2	3	4	5	6	7
峰面积积分值	580.88	582.36	591.81	590.67	596.78	601.54	604.39

2.7 重现性试验

取同一批号雪胆素片(20120902),平行取 6 份样依法制成供试品溶液,按上述色谱条件外标法测定雪胆素甲的含量,以标示量计雪胆素甲的平均含量为 104.37%,RSD 为 0.26%($n=6$)。结果表明,该法重现性良好,结果见表 4。

表 4 重现性实验

样品编号	1	2	3	4	5	6
含量/%	104.20	104.89	104.14	104.40	104.27	104.31

2.8 加样回收率试验

取已知含量的雪胆素片(批号:20120902,8.26mg/g)研细,取 9 份,每份 0.35g,精密称定,再分别加入雪胆素甲对照品适量,按供试品溶液的制备和样品测定项下操作,平均回收率为 96.80%,RSD 为 0.44%($n=9$),结果见表 5。

2.9 样品测定

取雪胆素片样品共 10 批,按照上述确定的方法测定,结果见表 6。

3 讨论

葫芦科雪胆属植物中富含三萜类成分,其中以雪胆素类成分为主^[4]。雪胆素具有较高的药理活性,

表5 加样回收率试验结果

取样量 /g	测定量 /mg	样品含量 /mg	对照品测 得量/mg	对照品加 入量/mg	回收率 /%
0.2907	4.64	2.40	2.23	2.32	96.33
0.3526	4.82	2.91	1.90	1.97	96.60
0.3192	4.69	2.64	2.05	2.11	97.38
0.3007	5.50	2.48	3.02	3.11	97.02
0.3532	5.84	2.92	2.92	3.02	96.64
0.3164	5.61	2.61	3.00	3.08	97.34
0.3308	6.72	2.73	3.99	4.15	96.10
0.3091	6.52	2.55	3.96	4.09	96.92
0.2677	6.12	2.21	3.90	4.03	96.88

有广谱抗菌效果,并且对心血管系统也有作用,雪胆属植物分布比较广泛,其中又以云南和浙江资源较丰富^[9],以雪胆属植物开发的制剂品种繁多^[6],因此有效控制好这类制剂的质量有重要的意义。

现行雪胆素片质量标准中采用可见紫外分光光度法测定雪胆素甲的含量,此方法用比色法定量,利用化学显色的模式测定吸光度,以发色官能团的表征来测定总量,但测定结果包含具有相同官能团结构的三萜同系物,转专属性差,同时受实验操作、环境条件等因素影响较大。而高效液相色谱方法是在色谱分离的基础上,对于特定位置的吸收峰进行定量,更具有专属性,测定结果更客观,并且实验操作更简化,受环境等条件影响更小。

现研究采用高效液相色谱外标法测定雪胆素甲的含量,在专属性、准确度、灵敏度、重现性、稳

表6 雪胆素片的含量测定结果

批号	含量/%		平均/%
20120701	108.31	108.39	108.35
20120702	108.48	107.99	108.24
20120801	101.32	100.78	101.05
20120802	105.84	105.51	105.67
20120901	106.85	105.45	106.15
20120902	103.09	103.77	103.43
20121001	98.92	99.09	99.01
20121002	108.64	107.49	108.07
20121101	100.83	100.33	100.58
20121102	105.44	105.74	105.59

定性等方面均能达到药品分析的技术要求,可作为雪胆素及其制剂的定量检测方法,更好地控制其质量。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. WS₃-B-3694-98《卫生部药品质量标准》中药成方制剂第19册[S]. 1998:202.
- [2] 陈夏静,伍怡颖,匡文娟,等. 雪胆素片抗炎镇咳作用的实验研究[J]. 四川生理科学杂志,2009,31(4):153-154.
- [3] 聂瑞麟,陈宗莲. 雪胆属植物化学研究历史和现状[J]. 云南植物研究,1986,8(1):115-124.
- [4] 徐晓婷,邓志鹏,仲浩,等. 雪胆素的研究进展[J]. 齐鲁药事,2012,31(10):600-601.
- [5] 曾庆通,黄永超. 雪胆的综合利用[J]. 药事通报,1980(5):5-7.
- [6] 杨群芳,王贤英. 中药雪胆及其制剂的研究进展[J]. 中国药业,2003,12(9):76-77.

(编辑:杨 阳)

Determination of Cucurbitacin IIa in the Xuedansu Pian by HPLC

SU Jian

(Kunming Institute for Food and Drug Control, Kunming 650032, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish an HPLC method for the determination of Cucurbitacin IIa in the Xuedansu Pian. **Methods** The contents were determined by HPLC with the use of C₁₈ column, and a mobile phase of acetonitrile-water(40:60). The flow rate was 1.0 ml·min⁻¹ and the detective wavelength was 212nm. **Results** The average content of the Cucurbitacin IIa in the 10 instalments Xuedansu Pian was 104.61%. **Conclusion** The method is simple, sensitive and repeatable. It is suitable for the quality control of Xuedansu Pian.

KEY WORDS: Xuedansu Pian; Cucurbitacin IIa; HPLC