

HPLC 法测定舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷和藁本内酯

黄春兰¹, 朱新华¹, 叶慧文², 李雄杰³

1. 深圳市坪山区人民医院 药剂科, 广东 深圳 518118

2. 深圳市人民医院 药学部, 广东 深圳 518020

3. 武汉纺织大学 化学与化工学院, 湖北 武汉 430200

摘要: 目的 建立 HPLC 波长切换法同时测定舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷、藁本内酯的方法。方法 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.2%磷酸溶液, 梯度洗脱; 0~31.0 min 在 210 nm 波长下检测哈巴苷、哈巴俄苷和梓醇, 31.0~55.0 min 在 330 nm 波长下检测毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷和藁本内酯; 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。结果 哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷、藁本内酯分别在 2.06~51.50、0.78~19.50、4.07~101.75、2.66~66.50、1.09~27.25、1.71~42.75、13.58~399.50 μg/mL 线性关系良好; 各成分的平均回收率分别为 99.41%、97.38%、99.18%、98.53%、97.98%、98.98%、99.96%, RSD 值分别为 0.86%、1.41%、1.11%、1.23%、0.92%、0.95%、0.76%。结论 该方法操作便捷、重复性好, 可用于舒筋跌打膏的质量控制。

关键词: 舒筋跌打膏; 哈巴苷; 哈巴俄苷; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 焦地黄苯乙醇苷 B1; 马替诺皂苷; 藁本内酯; 高效液相色谱
中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)07-1960-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2019.07.005

Determination of harpagide, harpagoside, catalpol, verbascoside, jionoside B1, martiniside, and ligustilide in Shujin Dieda Plaster by HPLC

HUANG Chun-lan¹, ZHU Xin-hua¹, YE Hu-wen², LI Xiong-jie³

1. Department of Pharmacy, Pingshan District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518118, China

2. Department of Pharmacy, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, China

3. Wuhan Textile University, Chemistry and Chemical Engineering College, Wuhan 430200, China

Abstract: Objective To establish an HPLC with wavelength switching method for simultaneous determination of harpagide, harpagoside, catalpol, verbascoside, jionoside B1, martiniside, and ligustilide in Shujin Dieda Plaster. **Methods** The separation was performed on Agilent Eclipse XDB-C₁₈ chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile - 0.2% phosphoric acid solution with gradient elution. The detection wavelengths were set at 210 nm for harpagide, harpagoside, and catalpol during 0 — 31.0 min, and verbascoside, jionoside B1, martiniside, and ligustilide were detected at 210 nm during 31.0 — 55.0 min. The flow rate was 0.9 mL/min, temperature of column was set at 30 °C, and volume of injection was 20 μL. **Results** The linear ranges of harpagide, harpagoside, catalpol, verbascoside, jionoside B1, martiniside, and ligustilide were 2.06 — 51.50 μg/mL, 0.78 — 19.50 μg/mL, 4.07 — 101.75 μg/mL, 2.66 — 66.50 μg/mL, 1.09 — 27.25 μg/mL, 1.71 — 42.75 μg/mL, 13.58 — 399.50 μg/mL, respectively. The average recoveries were 99.41%, 97.38%, 99.18%, 98.53%, 97.98%, 98.98%, and 99.96%, with RSD of 0.86%, 1.41%, 1.11%, 1.23%, 0.92%, 0.95%, and 0.76%, respectively. **Conclusion** The method is easy to operate and repeatable, Can be used for quality control of Shujin Dieda Plaster.

Key words: Shujin Dieda Plaster; harpagide, harpagoside, catalpol, verbascoside, jionoside B1, martiniside, ligustilide; HPLC

收稿日期: 2019-04-06

基金项目: 深圳市坪山区卫生系统科研项目 (201705)

作者简介: 黄春兰, 女, 主管药师, 本科, 研究方向为药品质量控制、药物载体材料。E-mail: hcl9218@qq.com

舒筋跌打膏收载于《卫生部部颁药品标准》中药成方制剂第十册^[1],由玄参、地黄、当归、大黄、赤芍、白芷等13味中药加工而成的复方制剂,具有舒筋活血、驱风散寒的功效,临床上主要用于跌打损伤、闪腰岔气、受风受寒、手足麻木、腰疼腿疼、积聚痞块等症的治疗。舒筋跌打膏的现行《卫生部部颁药品标准》(WS3-B-3922-98)无定量测定研究。为全面控制本品的内在质量,本研究采用HPLC波长切换法对舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷和藁本内酯进行同时测定分析,为舒筋跌打膏质量标准的提高和完善提供实验依据。

1 仪器与材料

安捷伦1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);AE240型十万分之一分析天平(瑞士Mettler公司)。

哈巴苷(批号111729-201707,质量分数96.8%)、哈巴俄苷(批号111730-201709,质量分数95.9%)、梓醇(批号110808-201711,质量分数99.6%)、毛蕊花糖苷(批号111530-201713,质量分数92.5%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;焦地黄苯乙醇苷B1对照品(批号120406-37-3,质量分数98.0%)购自成都普瑞法科技开发有限公司;藁本内酯对照品(批号4431-01-0,质量分数98.0%)购自上海纯优生物科技有限公司;马替诺皂苷对照品(批号67884-12-2,质量分数98.0%)购自成都克洛玛生物科技有限公司;舒筋跌打膏(规格10g/贴,批号180104、180201、180902)购自陕西康惠制药股份有限公司;乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

分别精密称取哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷、藁本内酯对照品适量,用50%甲醇分别制成单成分对照品储备液(含哈巴苷0.412 mg/mL、哈巴俄苷0.156 mg/mL、梓醇0.814 mg/mL、毛蕊花糖苷0.532 mg/mL、焦地黄苯乙醇苷B1 0.218 mg/mL、马替诺皂苷0.342 mg/mL、藁本内酯2.716 mg/mL);分别精密吸取上述单成分对照品储备液各2.5 mL,置同一个50 mL量瓶中,用50%甲醇制成混合对照品溶液(含哈巴苷17.44 μ g/mL、哈巴俄苷6.8 μ g/mL、梓醇40.16 μ g/mL、毛蕊花糖苷22.88 μ g/mL、焦地

黄苯乙醇苷B1 9.76 μ g/mL、马替诺皂苷15.04 μ g/mL、藁本内酯150.08 μ g/mL)。

2.2 供试品和阴性样品溶液的制备

取舒筋跌打膏适量,除去盖衬,剪碎,取约4.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,密塞,称定质量,加热回流45 min,放冷后用50%甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,即得。

按照舒筋跌打膏的处方比例和制法分别制备缺玄参、缺地黄和缺当归的3种阴性样品,再按上述供试品溶液的制备方法制成3种阴性样品溶液。

2.3 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.2%磷酸溶液,梯度洗脱^[2](0~11.0 min, 18.0% A; 11.0~24.0 min, 18.0%→23.0% A; 24.0~41.0 min, 23.0%→35.0% A; 41.0~47.0 min, 35.0%→42.0% A; 47.0~55.0 min, 42.0%→18.0% A); 0~31.0 min在210 nm波长下检测哈巴苷、哈巴俄苷和梓醇^[3-4], 31.0~55.0 min在330 nm波长下检测毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷和藁本内酯^[5];体积流量0.9 mL/min;柱温30 $^{\circ}$ C;进样量20 μ L。

2.4 线性关系考察

取单成分对照品储备液各0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,分别置于6个20 mL量瓶中,用50%甲醇制成6个系列质量浓度的混合对照品溶液,依法进样检测。以哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷和藁本内酯峰面积值为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,结果见表1。

2.5 系统适用性试验

取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各适量,依法进样测定,记录HPLC色谱图,见图1。结果显示哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷、藁本内酯与相邻各色谱峰的分度均大于1.5,理论塔板数按所测各成分计均不低于3 500,阴性样品结果对测定无干扰。

2.6 精密度试验

取混合对照品溶液,连续进样6次,记录所测成分哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、马替诺皂苷、藁本内酯的峰面积,结果所测各成分峰面积的RSD值分别为0.90%、1.12%、0.74%、0.81%、1.05%、1.00%、0.62%。

表1 各成分的回归方程、线性范围和相关系数结果

Table 1 Regression equation, liner ranges, and correlation coefficients of components

对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
哈巴昔	$Y=1.297\ 2\times 10^6 X+387.1$	0.999 5	2.06~51.50
哈巴俄昔	$Y=1.131\ 5\times 10^6 X-455.8$	0.999 9	0.78~19.50
梓醇	$Y=1.564\ 5\times 10^6 X+179.6$	0.999 7	4.07~101.75
毛蕊花糖苷	$Y=1.402\ 1\times 10^6 X+232.9$	0.999 1	2.66~66.50
焦地黄苯乙醇苷 B ₁	$Y=1.005\ 7\times 10^6 X-429.0$	0.999 3	1.09~27.25
马替诺皂苷	$Y=1.233\ 9\times 10^6 X+269.4$	0.999 6	1.71~42.75
藜本内酯	$Y=7.893\ 5\times 10^5 X-180.5$	0.999 7	13.58~399.50

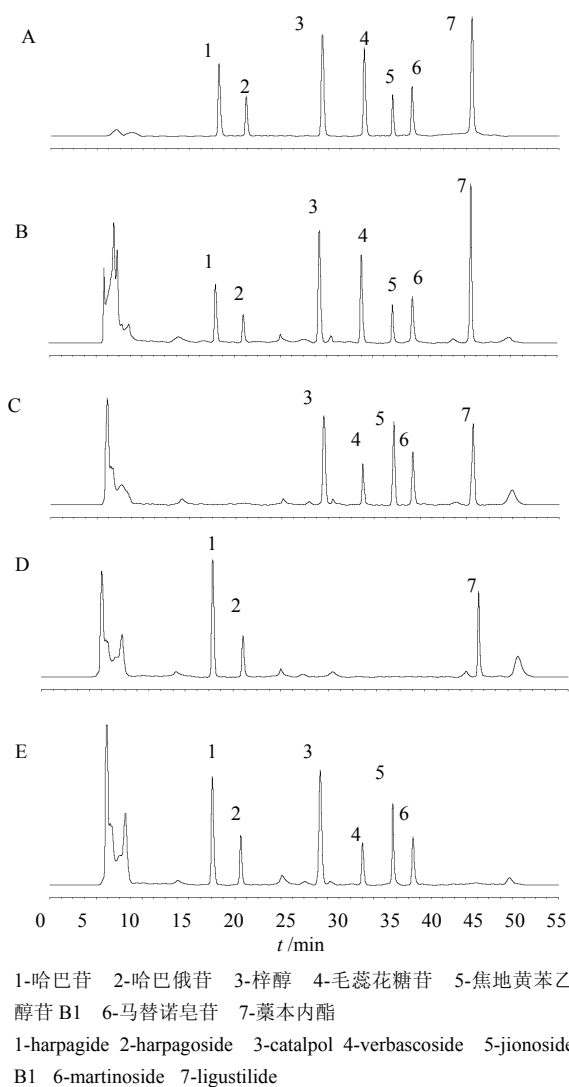


图1 混合对照品(A)、舒筋跌打膏(B)、缺玄参(C)、缺地黄(D)和缺当归(E)阴性样品的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of mixed reference substances (A), Shujin Dieda Plaster (B), negative sample without *Scrophulariae Radix* (C), negative sample without *Rehmanniae Radix* (D), and negative sample without *Angelicae Sinensis Radix* (E)

2.7 重复性试验

取批号180104的舒筋跌打膏适量6份,制备供试品溶液,依法进样进行测定,记录哈巴昔、哈巴俄昔、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B₁、马替诺皂苷和藜本内酯的峰面积,计算所测各成分的质量分数,结果哈巴昔、哈巴俄昔、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B₁、马替诺皂苷和藜本内酯质量分数的RSD值分别为1.75%、0.92%、1.63%、0.37%、1.88%、1.21%、1.59%。

2.8 稳定性试验

取批号180104舒筋跌打膏样品,制备供试品溶液,在室温下放置0、2、4、8、12、16 h,依法取样进样进行测定,记录哈巴昔、哈巴俄昔、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B₁、马替诺皂苷和藜本内酯的峰面积,结果舒筋跌打膏供试品溶液在室温下16 h内稳定,所测各成分的峰面积RSD值分别为0.87%、1.06%、0.71%、0.56%、1.09%、0.98%、0.65%。

2.9 回收率试验

取批号180104舒筋跌打膏适量,除去盖衬,剪碎,取9份,每份约2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入另行配制的混合对照品溶液(哈巴昔0.219 mg/mL、哈巴俄昔0.087 mg/mL、梓醇0.499 mg/mL、毛蕊花糖苷0.285 mg/mL、焦地黄苯乙醇苷B₁0.119 mg/mL、马替诺皂苷0.192 mg/mL和藜本内酯1.882 mg/mL)0.5、1.0、1.5 mL,各3份,制备供试品溶液,依法进样测定,计算得哈巴昔、哈巴俄昔、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B₁、马替诺皂苷和藜本内酯的平均回收率分别为99.41%、97.38%、99.18%、98.53%、97.98%、98.98%、99.96%,RSD值分别为0.86%、1.41%、1.11%、1.23%、0.92%、0.95%、0.76%。

2.10 样品测定

取各批舒筋跌打膏适量,制备3份供试品溶液,按照上述色谱条件下进样检测,外标法计算样品中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷、藁本内酯7个成分的质量分数,结果见表2。

表2 舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷和藁本内酯的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of harpagide, harpagoside, catalpol, verbascoside, jionoside B1, martinoside, and ligustilide in Shujin Dieda Plaster ($n=3$)

成分	质量分数/(mg·贴 ⁻¹)		
	批号 180104	批号 180201	批号 180902
哈巴苷	1.09	0.93	1.22
哈巴俄苷	0.43	0.37	0.48
梓醇	2.51	2.80	2.27
毛蕊花糖苷	1.43	1.31	1.62
焦地黄苯乙醇苷 B ₁	0.61	0.53	0.69
马替诺皂苷	0.94	0.81	0.99
藁本内酯	9.38	8.93	10.64

3 讨论

3.1 流动相的选择

在高效液相色谱分析中,流动相的选择非常重要。本实验考察了乙腈-磷酸溶液流动相体系^[6-7]进行梯度洗脱,同时对磷酸溶液的浓度进行了摸索,最终确定采用乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相,按照实验中梯度洗脱程序对舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷、藁本内酯7个成分进行同时测定。

3.2 提取溶剂的确定

在对样品处理时,采用了不同的提取溶剂:甲醇^[8]、70%甲醇、50%甲醇^[9],采用超声提取^[10]和加热回流提取两种提取方式,考察了不同的提取时间

15、30、45、60 min,结果发现采用50%甲醇加热回流45 min时综合提取率最佳。最终确定50%甲醇加热回流提取45 min为供试品溶液的制备方法。

控制中药复方制剂最有效的手段是采用多种成分同时进行定量测定,本实验建立了HPLC梯度洗脱法同时测定舒筋跌打膏中哈巴苷、哈巴俄苷、梓醇、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、马替诺皂苷、藁本内酯的含量,为舒筋跌打膏质量标准的研究和综合评价提供参考依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂第十册 [M]. WS3-B-3922-98. 1998: 229.
- [2] 张留记, 周志敏, 屠万倩, 等. HPLC同时测定地黄中5种苷类成分的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29: 87-90.
- [3] 刘利利, 刘颖新, 毛群芳, 等. HPLC法同时测定苍术-玄参药对中4种活性成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 81-85.
- [4] 舒柯. 双波长HPLC法同时测定玄麦甘桔颗粒中哈巴苷和哈巴俄苷的含量 [J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(10): 31-32, 36.
- [5] 张文萌, 张石, 付锦楠, 等. RP-HPLC双波长法同时测定熟地黄中4种成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(5): 367-372.
- [6] 王娟娟, 张振凌, 都盼盼, 等. UPLC法测定地黄叶及块根中的梓醇和毛蕊花糖苷 [J]. 中成药, 2015, 37(9): 1981-1984.
- [7] 容穗华, 林海, 高妮. 不同产地当归中主要有效成分的含量测定 [J]. 当代医学, 2011, 17(22): 140-141.
- [8] 王婕, 赵建邦, 宋平顺. 30批当归中阿魏酸、藁本内酯含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 70-73.
- [9] 张雪梅, 王瑞, 安睿, 等. HPLC同时测定玄参中5种成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 709-711.
- [10] 段然, 薛润光, 李军, 等. 用HPLC-DAD的方法评价不同产地当归药材的质量 [J]. 中国现代中药, 2009, 11(8): 27-29, 34.