

HPLC法同时测定六神丸中9种蟾蜍二烯内酯类成分的含量

张宁^{1*}, 秦昆明^{2,3}, 金俊杰², 刘美辉¹, 杨冰², 曾庆琪^{1#} (1. 江苏建康职业学院药学院, 南京 210029; 2. 南京海昌中药集团有限公司, 南京 210061; 3. 南京海源中药饮片有限公司, 南京 210061)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-3000-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.34

摘要 目的: 建立同时测定六神丸中和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 ODS-2 C₁₈, 流动相为乙腈-0.15% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 296 nm, 柱温为 40 ℃, 进样量为 10 μL。结果: 和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基检测质量浓度线性范围分别为 1.10~70.39 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、4.03~257.78 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、4.09~261.89 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、0.67~42.96 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、3.36~214.73 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、5.73~366.44 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、3.77~241.56 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、7.31~468.11 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、5.18~331.56 μg/mL ($r=0.999\ 9$); 定量限分别为 1.10、0.85、1.02、0.34、0.84、1.43、0.94、3.66、2.59 μg/mL, 检测限分别为 0.27、0.21、0.51、0.17、0.42、0.72、0.47、0.91、1.30 μg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 3.0%; 加样回收率分别为 96.35%~103.10% (RSD=2.72%, $n=6$)、96.76%~103.24% (RSD=2.49%, $n=6$)、97.01%~101.39% (RSD=1.64%, $n=6$)、97.32%~104.01% (RSD=2.61%, $n=6$)、95.76%~103.60% (RSD=2.92%, $n=6$)、95.07%~102.59% (RSD=2.92%, $n=6$)、95.77%~101.43% (RSD=2.03%, $n=6$)、95.11%~103.72% (RSD=3.19%, $n=6$)、95.23%~103.34% (RSD=3.24%, $n=6$)。结论: 该方法简便快速、准确可靠、重复性好, 适用于同时测定六神丸中蟾蜍二烯内酯类成分的含量。

关键词 六神丸; 蟾蜍二烯内酯类成分; 含量测定; 高效液相色谱法

Simultaneous Determination of 9 Components of Bufadienolide in Liushen Pills by HPLC

ZHANG Ning¹, QIN Kunming^{2,3}, JIN Junjie², LIU Meihui¹, YANG Bing², ZENG Qingqi¹ (1. School of Pharmacy, Jiangsu Jiankang Vocational College, Nanjing 210029, China; 2. Nanjing Haichang TCM Corporation, Co., Ltd. Nanjing 210061, China; 3. Nanjing Haiyuan TCM Decoction Piece Co., Ltd., Nanjing 210061, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for simultaneous determination of gamabufotalin, arenobufagin, telocinobufagin, desacetylcinobufotalin, bufotalin, cinobufotalin, bufalin, cinobufagin and resibufogenin in Liushen pills. **METHODS:** HPLC method was adopted. The determination was performed on ODS-2 C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.15% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 296 nm, and column temperature was 40 ℃. The sample size was 10 μL. **RESULTS:** The linear ranges of gamabufotalin, arenobufagin, telocinobufagin, desacetylcinobufotalin, bufotalin, cinobufotalin, bufalin, cinobufagin and resibufogenin were 1.10-70.39 μg/mL ($r=0.999\ 6$), 4.03-257.78 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 4.09-261.89 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 0.67-42.96 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 3.36-214.73 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 5.73-366.44 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 3.77-241.56 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 7.31-468.11 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 5.18-331.56 μg/mL ($r=0.999\ 9$). The limits of quantitation were 1.10, 0.85, 1.02, 0.34, 0.84, 1.43, 0.94, 3.66, 2.59 μg/mL; the limits of detection were 0.27, 0.21, 0.51, 0.17, 0.42, 0.72, 0.47, 0.91, 1.30 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0%. The recoveries were 96.35%-103.10% (RSD=2.72%, $n=6$), 96.76%-103.24% (RSD=2.49%, $n=6$), 97.01%-101.39% (RSD=1.64%, $n=6$), 97.32%-104.01% (RSD=2.61%, $n=6$), 95.76%-103.60% (RSD=2.92%, $n=6$), 95.07%-102.59% (RSD=2.92%, $n=6$), 95.77%-101.43% (RSD=2.03%, $n=6$), 95.11%-103.72% (RSD=3.19%, $n=6$), 95.23%-103.34% (RSD=3.24%, $n=6$), respectively. **CONCLUSIONS:** The method is simple, rapid, accurate, reliable and can be used for the determination of bufadienolide in Liushen pills.

KEYWORDS Liushen pills; Bufadienolide; Content determination; HPLC

六神丸出自《中国医学大辞典》^[1], 具有清凉解毒、消炎止痛的功效, 适用于咽喉肿痛、烂喉丹痧、小儿热疔、痈疡疔疮等证, 属于国家中药保护品种。该药由牛黄、

麝香、蟾酥、冰片、雄黄和珍珠六味中药组成^[2], 其中蟾酥为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufogargarizans Cantor* 或黑眶蟾蜍 *B. melanostictus Schneider* 的干燥分泌物^[3], 具有解毒、消肿、强心和止痛等功效, 其活性成分蟾蜍二烯内酯类成分具有升压、兴奋呼吸系统、抗肿瘤及显著的洋地黄样作用^[4-6], 此外还具有一定的攻毒抗癌作用,

* 讲师, 硕士。研究方向: 025-68172734。E-mail: zhangning198410@163.com

通信作者: 教授, 博士生导师。研究方向: 中医临床。电话: 025-68172734。E-mail: zengqq111@126.com

可用于肠癌、肝癌、白血病、皮肤癌等的治疗^[7-8];但是,蟾蜍二烯内酯类成分还具有一定心脏毒性,可导致心功能障碍、引发心律失常等^[9-10]。目前,该制剂收载于《卫生部药品标准中药成方制剂(第十八册)》(标准编号:WS3-B-3374-98),该标准中只有牛黄中胆酸的含量测定项,且现有报道也只测定了单个或者两个蟾蜍二烯内酯类成分的含量^[11-13]。鉴于此,笔者采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定六神丸中9种蟾蜍二烯内酯类成分(和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基)含量的方法,以期完善该制剂的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

e2695型HPLC仪,包括在线脱气机、自动进样器Prominence SIL-20A、2998紫外可见光检测器和柱温箱(美国Waters公司);Anke TGL-16C型高速离心机(上海安亭科学仪器厂);FA1204B型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司);XPE56型微量电子天平(美国Mettler-Toledo公司);Milli-Q Synthesis 108型超纯水仪(美国Millipore公司);KQ-500DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:200 W,功率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

六神丸(雷允上药业有限公司,批号:NA18003A、NA18008B、NA18018A、NA18021B、OA18019A、OA10005B、OA18025B、OA18009C、OA18004B、LA18012C,规格:10粒/支);和蟾蜍他灵对照品(批号:465-11-2)、沙蟾毒精对照品(批号:464-74-4)、远华蟾毒精对照品(批号:472-26-4)、去乙酰华蟾毒它灵对照品(批号:4099-30-3)、华蟾毒它灵对照品(批号:1108-68-5)、蟾毒灵对照品(批号:11981-201501)均购自宝鸡辰光生物科技有限公司,纯度均>98.0%;蟾毒它灵对照品(批号:110703-201305)、华蟾酥毒基对照品(批号:110803-201406)、酯蟾毒配基对照品(批号:110718-201108)均购自中国食品药品检定研究院,纯度均>98.0%;乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:ODS-2 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.15%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~15 min, 20%→25% A; 15~25 min, 25%→40% A; 25~35 min, 40% A; 35~37 min, 40%→55% A; 37~45 min, 55% A; 45~47 min, 55%→100% A; 47~52 min, 100% A; 52~54 min, 100%→20% A; 54~55 min, 20% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:296 nm;柱温:40 ℃;进样量:10 μL。

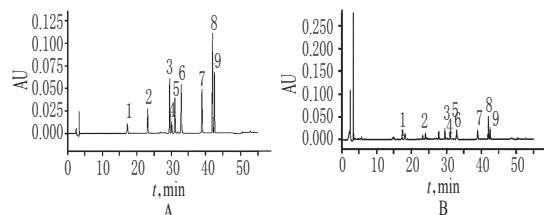
2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取和蟾蜍他灵对照品7.039 mg、沙蟾毒精对照品25.778 mg、远华蟾毒精对照品26.189 mg、去乙酰华蟾毒它灵对照品4.296 mg、蟾毒它灵对照品21.473 mg、华蟾毒它灵对照品36.644 mg、蟾毒灵对照品24.156 mg、华蟾酥毒基对照品36.644 mg、酯蟾毒配基对照品33.156 mg,置于同一100 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成和蟾蜍他灵质量浓度为70.39 μg/mL、沙蟾毒精质量浓度为257.78 μg/mL、远华蟾毒精质量浓度为261.89 μg/mL、去乙酰华蟾毒它灵质量浓度为42.96 μg/mL、蟾毒它灵质量浓度为214.73 μg/mL、华蟾毒它灵质量浓度为366.44 μg/mL、蟾毒灵质量浓度为241.56 μg/mL、华蟾酥毒基质量浓度为366.44 μg/mL、酯蟾毒配基质量浓度为331.56 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品适量,研磨粉碎后过200目筛,取粉末约0.2 g,精密称定,置于100 mL量瓶中,加甲醇10 mL,密塞,称定质量,超声提取60 min,放冷至室温,加甲醇补足减失的质量,摇匀,以半径5 cm、3 000 r/min离心10 min,取上清液,即得。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度>1.5;理论板数以蟾毒灵峰计为3 000,和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基的保留时间分别为17.270、23.180、29.533、30.131、31.063、32.890、38.888、41.989、42.483 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A.混合对照品;B.供试品;1.和蟾蜍他灵;2.沙蟾毒精;3.远华蟾毒精;4.去乙酰华蟾毒它灵;5.蟾毒它灵;6.华蟾毒它灵;7.蟾毒灵;8.华蟾酥毒基;9.酯蟾毒配基

A.mixed control; B.test sample; 1.gamabufotalin; 2.arenobufagin; 3. telocinobufagin; 4.desacetylcinobufotalin; 5.bufotalin; 6.cinobufotalin; 7. bufalin; 8.cinobufagin; 9. resibufogenin

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液0.15、0.31、0.62、1.25、2.5、5 mL,分别置于5 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围

见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/mL}$
和蟾蜍他灵	$y=9\ 403.5x-5\ 732.2$	0.999 6	1.10~70.39
沙蟾毒精	$y=9\ 585.4x-3\ 300.8$	0.999 9	4.03~257.78
远华蟾毒精	$y=8\ 300.6x-3\ 149.1$	0.999 9	4.09~261.89
去乙酰华蟾毒它灵	$y=11\ 524x-709.03$	0.999 9	0.67~42.96
蟾毒它灵	$y=8\ 263.9x-2\ 728.8$	0.999 9	3.36~214.73
华蟾毒它灵	$y=7\ 672.7x-4\ 691.1$	0.999 9	5.73~366.44
蟾毒灵	$y=9\ 337.9x+177.01$	0.999 9	3.77~241.56
华蟾酥毒基	$y=8\ 073.2x-3\ 395$	0.999 9	7.31~468.11
酯蟾毒配基	$y=7\ 319.1x-2\ 590.4$	0.999 9	5.18~331.56

2.5 定量限(LOQ)与检测限(LOD)考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得LOQ;当信噪比为3:1时,得LOD,详见表2。

表2 LOQ与LOD测定结果($\mu\text{g/mL}$)

Tab 2 Determination results of LOQ and LOD ($\mu\text{g/mL}$)

待测成分	LOQ	LOD
和蟾蜍他灵	1.10	0.27
沙蟾毒精	0.85	0.21
远华蟾毒精	1.02	0.51
去乙酰华蟾毒它灵	0.34	0.17
蟾毒它灵	0.84	0.42
华蟾毒它灵	1.43	0.72
蟾毒灵	0.94	0.47
华蟾酥毒基	3.66	0.91
酯蟾毒配基	2.59	1.30

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的RSD分别为1.36%、1.25%、1.44%、1.07%、1.08%、1.21%、1.20%、1.16%、1.11% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:NA18003A)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、10、12、16、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的RSD分别为1.70%、1.60%、1.80%、2.37%、1.83%、1.87%、1.93%、1.71%、1.75% ($n=8$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.8 重复性试验

取样品(批号:NA18003A)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,和蟾蜍他灵、沙蟾毒精、远华蟾毒精、去乙酰华蟾毒它灵、蟾毒它灵、华蟾毒它灵、蟾毒灵、华

蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积的RSD分别为2.06%、2.28%、2.47%、2.09%、2.44%、2.36%、2.47%、2.45%、2.45% ($n=6$),表明本试验重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:NA18003A)适量,共6份,分别加入一定质量的待测成分对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 3 Results of recovery tests ($n=6$)

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
和蟾蜍他灵	0.200 7	0.064 7	0.063 0	0.125 7	96.83	99.71	2.72
	0.202 1	0.064 9	0.063 0	0.129 9	103.10		
	0.201 3	0.064 8	0.063 0	0.127 4	99.37		
	0.201 9	0.064 8	0.063 0	0.128 4	100.95		
	0.202 7	0.065 1	0.063 0	0.125 8	96.35		
	0.202 5	0.064 9	0.063 0	0.128 9	101.59		
沙蟾毒精	0.200 7	0.061 7	0.061 7	0.121 4	96.76	100.30	2.49
	0.202 1	0.061 9	0.061 7	0.125 6	103.24		
	0.201 3	0.061 8	0.061 7	0.122 5	98.38		
	0.201 9	0.061 9	0.061 7	0.123 6	100.00		
	0.202 7	0.062 1	0.061 7	0.125 5	102.76		
	0.202 5	0.062 0	0.061 7	0.124 1	100.65		
远华蟾毒精	0.200 7	0.196 3	0.193 8	0.384 3	97.01	97.35	1.64
	0.202 1	0.196 6	0.193 8	0.393 1	101.39		
	0.201 3	0.196 3	0.193 8	0.384 6	97.16		
	0.201 9	0.196 4	0.193 8	0.386 9	98.30		
	0.202 7	0.197 3	0.193 8	0.388 3	98.56		
	0.202 5	0.196 7	0.193 8	0.386 0	97.68		
去乙酰华蟾毒它灵	0.200 7	0.023 0	0.022 4	0.045 2	99.11	99.48	2.61
	0.202 1	0.023 1	0.022 4	0.045 7	100.89		
	0.201 3	0.023 1	0.022 4	0.044 9	97.32		
	0.201 9	0.023 1	0.022 4	0.044 9	97.32		
	0.202 7	0.023 2	0.022 4	0.046 5	104.01		
	0.202 5	0.023 1	0.022 4	0.045 1	98.21		
蟾毒它灵	0.200 7	0.141 8	0.141 6	0.277 6	95.90	98.09	2.92
	0.202 1	0.142 2	0.141 6	0.280 6	97.74		
	0.201 3	0.142 0	0.141 6	0.277 6	95.76		
	0.201 9	0.142 0	0.141 6	0.280 1	97.53		
	0.202 7	0.142 7	0.141 6	0.289 4	103.60		
	0.202 5	0.142 3	0.141 6	0.281 1	98.02		
华蟾毒它灵	0.200 7	0.264 9	0.243 6	0.499 4	96.26	97.51	2.92
	0.202 1	0.265 7	0.243 6	0.507 0	99.06		
	0.201 3	0.265 3	0.243 6	0.496 9	95.07		
	0.201 9	0.265 4	0.243 6	0.498 2	95.57		
	0.202 7	0.266 6	0.243 6	0.516 5	102.59		
	0.202 5	0.265 8	0.243 6	0.500 9	96.51		
蟾毒灵	0.200 7	0.155 6	0.146 7	0.296 1	95.77	99.47	2.03
	0.202 1	0.156 1	0.146 7	0.304 9	101.43		
	0.201 3	0.155 9	0.146 7	0.298 0	96.86		
	0.201 9	0.156 0	0.146 7	0.300 1	98.23		
	0.202 7	0.156 7	0.146 7	0.302 0	99.55		
	0.202 5	0.156 2	0.146 7	0.302 1	99.45		
华蟾酥毒基	0.200 7	0.323 6	0.325 4	0.636 8	96.25	98.02	3.19
	0.202 1	0.324 6	0.325 4	0.647 9	99.35		
	0.201 3	0.324 1	0.325 4	0.633 6	95.11		
	0.201 9	0.324 2	0.325 4	0.637 9	96.40		
	0.202 7	0.325 7	0.325 4	0.663 2	103.72		
	0.202 5	0.325 7	0.325 4	0.663 2	103.72		

续表3
Continued tab 3

待测成分	取 样 量,g	样 品 含 量,mg	加 入 量, mg	测 得 量, mg	加 样 回 收 率,%	平 均 加 样 回 收 率,%	RSD, %
	0.202 5	0.324 7	0.325 4	0.641 3	97.30		
酯 蟾 毒 配 基	0.200 7	0.182 1	0.182 5	0.356 5	95.56	97.03	3.24
	0.202 1	0.182 6	0.182 5	0.356 8	95.45		
	0.201 3	0.182 4	0.182 5	0.356 2	95.23		
	0.201 9	0.182 5	0.182 5	0.357 2	95.73		
	0.202 7	0.183 3	0.182 5	0.371 9	103.34		
	0.202 5	0.182 7	0.182 5	0.359 5	96.88		

2.9 样品含量测定

取10批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 4 Determination result of samples(n=3, mg/g)

样品批号	和蟾 他灵	沙 蟾 毒 精	远 华 蟾 毒 精	去 乙 酰 华 蟾 毒 它 灵	蟾 毒 它 灵	华 蟾 毒 它 灵	蟾 毒 灵	华 蟾 酥 毒 基	酯 蟾 毒 配 基
NA18003A	0.40	0.32	0.62	0.15	0.84	25.76	0.96	2.30	1.43
NA18008B	0.88	0.69	1.75	0.32	1.85	62.14	2.06	4.75	2.61
NA18018A	0.62	0.59	1.87	0.21	1.35	50.60	1.47	3.10	1.95
NA18021B	0.51	0.45	1.43	0.18	1.12	41.07	1.22	2.72	1.69
OA18019A	0.73	0.83	2.11	0.23	1.61	55.28	1.75	3.26	2.33
OA10005B	0.61	0.64	1.71	0.21	1.34	48.46	1.48	3.04	1.99
OA18025B	0.72	0.79	2.01	0.22	1.58	54.00	1.67	3.28	2.06
OA18009C	0.44	0.18	0.61	0.16	0.89	25.97	1.05	2.64	1.64
OA18004B	0.58	0.61	1.63	0.20	1.23	45.89	1.39	2.97	2.04
LA18012C	0.75	0.55	1.38	0.28	1.56	53.78	1.48	3.35	1.20

3 讨论

3.1 样品提取方法和提取时间的选择

笔者考察了不同的提取方法(超声提取、回流提取)、提取溶剂(甲醇、90%甲醇、80%甲醇、70%甲醇、乙醇)和提取时间(30、60、90、120 min)对提取效果的影响。结果,以甲醇为提取溶剂,超声提取60 min,蟾蜍二烯内酯类成分提取率最高。

3.2 流动相的选择

笔者考察了不同的流动相体系——甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.15%磷酸溶液、乙腈-0.3%磷酸溶液对色谱图的影响。结果发现,以甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相时基线不平、峰形较差;以乙腈-0.15%磷酸溶液、乙腈-0.3%磷酸溶液为流动相时,色谱峰形较好,但从维护色谱柱的角度考虑,最终选用乙腈-0.15%磷酸溶液为流动相。

3.3 柱温的考察

笔者考察了不同的柱温(35、40℃)对色谱图的影响。结果发现,柱温为35℃时待测成分的出峰时间较

晚;而柱温为40℃时,待测成分出峰时间适宜,峰形及分离度均较好,故最终选择40℃为本试验的柱温。

3.4 结果分析

蟾蜍二烯内酯类成分作为六神丸发挥药效的重要组成部分,并未成为六神丸的质量控制指标成分。从样品测定结果看,10批六神丸中9种蟾蜍二烯内酯类成分差异较大。为实现对六神丸质量的控制,保证六神丸的安全有效,亟需建立以蟾蜍二烯内酯类成分为质量控制指标之一的六神丸质量标准。

综上所述,本方法简便快速、准确可靠、重复性好,适用于同时测定六神丸中蟾蜍二烯内酯类成分的含量。

参考文献

- [1] 孙旌文,魏从建.86例六神丸不良反应/事件文献分析[J].中国药物警戒,2015,12(7):428-431.
- [2] 姜波,张凤,王长虹,等.六神丸对CYP活性的诱导作用研究[J].中国药房,2015,26(16):2168-2171.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:383.
- [4] 黄侃,霍清萍.六神丸现代临床应用概述[J].中成药,2011,33(12):2132-2137.
- [5] 寇冠军,秦姿凡,邓雅芳,等.蟾酥的研究进展[J].中草药,2014,45(21):3185-3189.
- [6] 刘彦彦.蟾酥药理作用研究进展[J].河南农业,2014(18):59-60.
- [7] 巩仔鹏,陈涛,邓李蓉,等.华蟾素治疗癌痛的临床应用研究进展[J].现代药物与临床,2010,25(4):268-271.
- [8] 唐信威,肖洁,宋健.酯蟾毒配基选择性杀伤肿瘤细胞的研究[J].中国癌症杂志,2012,22(3):196-199.
- [9] Ma HY, Zhang JF, Jiang JJ, et al. Bilirubin attenuates bufadienolide-induced ventricular arrhythmias and cardiac dysfunction in guinea-pigs by reducing elevated intracellular Na⁺ levels[J]. Cardiovasc Toxicol,2013,12(1):83-89.
- [10] Ma HY, Zhou J, Jiang JJ, et al. The novel antidote bezoar bovis prevents the cardiotoxicity of toad (bufobufo gargarizans canto) venom in mice[J]. Exp Toxicol Pathol, 2012,64(5):417-423.
- [11] 陈婷.HPLC法同时测定蟾酥药材中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基的含量[J].西北药学杂志,2015,30(6):690-693.
- [12] 汪元符.HPLC同时测定干蟾皮中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基成分的含量[J].中国执业药师,2015,12(12):25-30.
- [13] 邹瑾丽,祁海宏.HPLC法测定六神丸中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基含量[J].中国临床药学杂志,2007,16(1):49-50.

(收稿日期:2017-04-17 修回日期:2017-05-09)

(编辑:刘柳)