

HPLC法测定肤阴净洗液中蛇床子素的含量

朱山寅¹, 徐木根², 姜宁华^{3*}

(1. 嘉兴市药品检验所, 浙江 嘉兴 314001; 2. 桐乡市第二人民医院, 浙江 桐乡 314511;

3. 嘉兴市中医医院, 浙江 嘉兴 314001)

肤阴净洗液为桐乡市第二人民医院研制的妇科制剂, 由蛇床子、黄柏、苦参、石菖蒲等中药组成, 具有清热解毒、燥湿止痒、杀虫的功能。主治各种类型的阴道炎症、外阴瘙痒、赤白带下、皮肤、肛门瘙痒及湿疹。方中君药蛇床子中香豆素类成分具有抑菌和杀灭阴道滴虫的作用, 故实验中选定其有效成分蛇床子素作为指标。在文献方法^[1]基础上, 结合本品药味的性质, 确定了提取条件和测定方法, 结果表明该方法操作简便、分离良好, 结果准确。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪: Waters 510/484/745B 色谱系统。肤阴净洗液 (桐乡市第二人民医院制剂室); 蛇床子素对照品 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 822-200212); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil C₁₈ 分析柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (54:46); 流速: 0.8 mL/min; 测定波长: 321 nm; 柱温: 室温。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取在五氧化二磷干燥器中减压干燥至恒重的蛇床子素对照品适量, 加乙醇制成 0.033 5 mg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 精密吸取本品 5 mL, 置分液漏斗中, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并乙醚提取液, 用 5% 氨溶液 10 mL 洗涤, 静置分层, 弃去氨溶液, 倾取乙醚上清液。剩余少量乳化层用乙醚洗涤 2 次, 每次 5 mL。合并乙醚液, 挥干, 残渣加乙醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过。取滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备: 按处方量制备不含蛇床子药材的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.5 干扰试验: 照上述色谱条件, 取对照品溶液、供

试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL, 分别注入色谱仪。供试品色谱图中, 在与对照品色谱图相应的位置上, 有一相同的色谱峰, 而阴性对照溶液在此保留时间无干扰。见图 1。

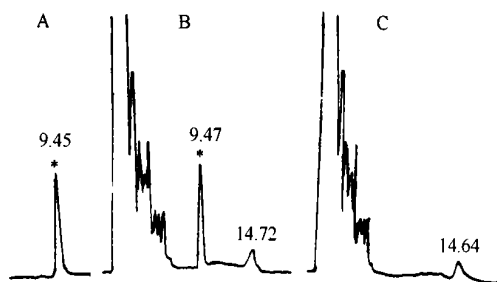


图 1 蛇床子素对照品 (A)、肤阴净洗液 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of cnidiadin reference substance (A), Fuyingjing Lotion (B) and negative sample (C)

2.6 线性关系考察: 精密吸取蛇床子素对照品溶液 (0.033 5 mg/mL) 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 μL 进样, 以峰面积积分值 Y 为纵坐标, 蛇床子素进样量 (X) (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 2.165 \times 10^7 X + 4.034 \times 10^5$, $r = 0.9991$ 。表明蛇床子素在 0.13~0.54 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验: 准确吸取蛇床子素对照品溶液 20 μL, 重复进样 5 次, 测定蛇床子素峰面积, 计算得其 RSD 为 1.70%。

2.8 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 分别在制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样, 测定蛇床子素峰面积, 计算得其 RSD 为 1.39% ($n = 6$)。表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.9 重现性试验: 取同一批号样品 5 份, 按供试品溶液制备方法制备及测试条件测定, 计算蛇床子素含量, 得其 RSD 为 1.73% ($n = 6$)。

2.10 加样回收率试验: 精密吸取已知蛇床子素含量 (0.068 8 mg/mL) 的供试品溶液 5 mL 置分液漏

* 收稿日期: 2003-08-03

作者简介: 朱山寅 (1958-), 男, 浙江省嘉兴市人, 副主任中药师, 中药室主任, 曾从事过药学教学工作, 主要从事中药的分析检验及药品质量控制的研究工作, 在专业杂志上发表科研论文 38 篇, 其中多篇论文获奖。Tel (0573) 2073235

斗中。另取蛇床子素对照品 6.51 mg,置 25 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。精密吸取上述溶液 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0 mL,分别加入到供试品溶液中,按 2.3项下方法制备并按上述色谱条件进行测定,结果平均回收率为 98.76%, RSD 为 1.67% ($n=6$)。

2.11 样品测定:精密吸取供试品溶液 20 μ L,按上述色谱条件测定,测定结果见表 1。

3 讨论

3.1 蛇床子素极性较小,易溶于乙醚,故用乙醚萃取。选择 5%氨水洗涤能除去部分脂溶性杂质。

表 1 肤阴净洗液中蛇床子素的含量 ($n=5$)

Table 1 Cnidadiin in Fuyinjing Lotion ($n=5$)

批号	蛇床子素含量 / [mg $\cdot$ (100 mL) $^{-1}$]	RSD %
1	6.87	1.34
2	6.95	1.51
3	6.74	1.22

3.2 曾试验了几种不同的流动相系统,在本实验所确定的色谱条件下,蛇床子素与其他组份能达到基线分离,理论板数按蛇床子素计大于 3 000。

Reference

[1] Chen D D, Zhao J. The analysis of coumarins in Shechuangzi [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1987, 7(2): 112-113.

复方利咽宁口服液中绿原酸含量的 HPLC测定及稳定性研究

孙晓菊¹,刘学兰^{2*}

(1. 华中科技大学同济医学院附属梨园医院 药剂科,湖北 武汉 430071;
2. 武汉市红十字协会医院 药剂科,湖北 武汉 430012)

复方利咽宁口服液是本院协定处方,由金银花、贯众、枇杷叶、板蓝根、桔梗等 12味中药组成,具有清热解毒、凉血利咽、止咳化痰之功效,临床上主要用于上呼吸道病毒性感染、风热咳嗽等症,经过临床长期使用,疗效显著。方中金银花为主药,具有解毒、杀菌、抗炎的功效,其中绿原酸为有效成分。本实验采用 HPLC法测定绿原酸的含量,操作简便,测定灵敏度、准确度均较好。

1 材料

美国 Waters HPLC系统 (484紫外检测器, 510 泵, U6K进样器, 680梯度控制器, 745数据处理机),瑞士 AE-240电子分析天平,瑞士 654 pH计, Millipore-Q超净水制备器, CQ50超声波清洗器, YWH振荡器。

复方利咽宁口服液 (本院中药制剂室),绿原酸对照品 (中国药品生物制品检定所),乙腈为优级纯,甲醇、冰醋酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Nova-Pak C₁₈ (100 mm $\times$ 3.9 mm, 4 μ m); 流动相: 乙腈-1%醋酸 (9: 91); 检测波长: 326 nm; 流速: 0.8 mL/min; 灵敏度: 0.04 AUFS; 柱温: 室温。在上述色谱条件下绿原酸保留时间约为 8.15 min,与其他杂质峰得到分离。

2.2 供试品溶液的制备: 取复方利咽宁口服液 0.1 mL,注入用 10% 甲醇溶液活化的 Sep-Pak C₁₈小柱,用 50% 甲醇以 1滴/s的速度推出,定容于 2 mL量瓶中,即得。

2.3 标准曲线的制备: 精密称定绿原酸对照品 8.29 mg,置于 5 mL量瓶中,加 20% 甲醇至刻度,得对照品储备溶液。精密吸取对照品储备溶液 0.1 mL,置于 25 mL量瓶中,加 20% 甲醇至刻度,吸取不同量对照品溶液进样,按前述 HPLC条件进行测定,以绿原酸的量对峰面积作回归计算,得回归方程: $Y=2.0635+0.0009X$, $r=0.9997$; 线性范围为 13.325~93.154 ng。

2.4 精密度试验: 同一供试品溶液,重复进样 3次,每次 5 μ L,测定吸收峰面积。结果绿原酸峰面积 RDS为 1.15% ($n=3$)。

2.5 稳定性试验: 同一供试品溶液,每隔 1 h进样 5 μ L,依法测定绿原酸吸收峰面积值,结果其 RDS为 1.47% ($n=18$)。结果供试品溶液在 17 h内稳定。

2.6 重现性试验: 精密量取批号为 20010312的复方利咽宁口服液 5份,照供试品溶液制备方法操作,进样,测定绿原酸吸收峰面积值。结果绿原酸峰面积 RDS为 1.64% ($n=5$)。

2.7 加样回收试验: 取含绿原酸 22.97 ng的供试

* 收稿日期: 2003-09-17