

高效液相色谱法测定阴炎净洗液中蛇床子素含量

唐 勇,周春菊

(湖南省怀化市药品检验所,湖南 怀化 418000)

摘要:目的 采用高效液相色谱(HPLC)法测定阴炎净洗液中蛇床子素含量。方法 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸(70:30:0.1), 流速为1.0 mL/min, 紫外检测波长为322 nm, 柱温为室温。结果 蛇床子素进样量在0.038 48~0.384 8 μg 范围内与峰面积线性关系良好, $r=1.000\ 0$ ($n=5$), 平均加样回收率为99.00%, $RSD=1.04\%$ ($n=9$)。结论 HPLC法准确、简便、快速, 可作为阴炎净洗液中蛇床子素含量的测定方法。

关键词: 阴炎净洗液, 蛇床子素, 高效液相色谱法, 含量测定

中图分类号 R284.1 R286.0

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2008)21-0036-01

阴炎净洗液是由蛇床子、百部、黄连、地肤子、苦参、龙胆草等中药制成的外用洗剂, 具有清热解毒、消炎除湿、止痛止痒、除臭杀虫之功效, 用于治疗霉菌、滴虫及细菌引起的阴道炎、外阴瘙痒、宫颈炎等。目前该制剂的质量标准中仅有定性鉴别项, 无含量测定方法。为有效控制药品质量, 笔者参照文献[1]采用高效液相色谱(HPLC)法测定了该制剂中君药蛇床子的主要成分蛇床子素的含量, 现报道如下。

1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪, 包括LC-20AT输液泵, SPD-M20A_{VP}检测器(日本), LCsolution工作站。蛇床子素对照品(批号为0822-200204, 中国药品生物制品检定所), 阴炎净洗液(批号为070513, 070821, 071106), 甲醇、磷酸(色谱纯), 超纯水, 其他试剂(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水-磷酸(70:30:0.1), 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 室温, 紫外检测波长: 322 nm, 进样量: 5 μL^[1]。

2.2 溶液制备

精密称取蛇床子素对照品12.03 mg, 置25 mL量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密吸取1 mL至25 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL含蛇床子素19.25 μg的对照品溶液。精密量取样品50 mL, 用乙醚提取3次, 每次30 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至10 mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液^[1]。按处方比例称取除蛇床子外的各药材, 并按标准工艺制备缺蛇床子的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验: 取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液, 分别进样5 μL, 色谱图见图1。可见, 在此色谱条件下, 蛇床子素的保留时间约为21.5 min, 蛇床子素峰与相邻峰达到基线分离且分离度达到9.9, 按蛇床子素计理论塔板数大于3 000, 阴性对照品溶液无干扰。

标准曲线制备: 精密吸取质量浓度为19.25 μg/mL的对照品溶液, 分别进样2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL, 测定峰面积, 以进样量 $X(\mu\text{g})$ 对峰面积 (Y) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=3.330\ 4\times 10^6 X-3.922\times 10^3$, $r=1.000\ 0$ ($n=5$)。结果表明蛇床子素进样量在0.038 48~0.384 8 μg

范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取质量浓度为19.25 μg/mL的对照品溶液5 μL, 重复进样5次。结果蛇床子素峰面积平均值为315 612, RSD 为0.68% ($n=5$)。

重现性试验: 取同一批(批号为070821)样品5份, 分别按供试品溶液制备方法制备待测溶液, 依法测定。结果蛇床子素的平均含量为2.8 μg/mL, RSD 为0.98% ($n=5$)。

稳定性试验: 取同一供试品(批号为070821)溶液, 在0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h时分别进样5 μL, 依法测定。结果蛇床子素峰面积平均值为229 655, RSD 为1.12% ($n=7$), 表明溶液在12 h内稳定性良好。

加样回收试验: 精密吸取已知含量为2.8 μg/mL的样品(批号为070821)溶液25 mL, 共9份, 分别精密加入质量浓度为19.25 μg/mL的对照品溶液2.9, 2.9, 2.9, 3.6, 3.6, 3.6, 4.3, 4.3, 4.3 mL, 依法制备待测溶液并测定, 计算回收率, 结果见表1。

表1 蛇床子素加样回收试验结果($n=9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.035	0.027 9	0.062 7	99.28	99.00	1.04
0.035	0.027 9	0.062 6	98.92		
0.035	0.027 9	0.063 2	101.08		
0.035	0.034 6	0.069 4	99.42		
0.035	0.034 6	0.069 2	98.84		
0.035	0.034 6	0.069 1	98.55		
0.035	0.041 4	0.075 4	97.58		
0.035	0.041 4	0.076 2	99.52		
0.035	0.041 4	0.075 5	97.83		

2.4 样品含量测定

取3批样品, 依法制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各5 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 按外标法计算。结果批号为070513, 070821, 071106的3批样品中蛇床子素含量分别为2.96, 2.82, 2.91 μg/mL ($n=3$)。

3 讨论

用HPLC法测定蛇床子素含量, 可用多种流动相^[1-2]。曾比较了多种比例的甲醇-水-磷酸的分离效果, 结果以甲醇-水-磷酸(70:30:0.1)为优, 蛇床子素与杂质峰分离度为9.9, 保留时间适中。用乙醚提取3次(每次30 mL)后的供试品与提取4次(每次30 mL)后的供试品, 效果基本一致, 表明3次即可提取完全, 无须复杂的提取方法。

参考文献:

- [1] WS-10394(ZD-0394)-2002 国家药品标准(外科 妇科分册)[S].
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 219-220.

(收稿日期 2008-01-21)