

高效液相色谱法测定利夫康洗液中蛇床子素的含量^{*}

李鹏,陈琴华,朱军,彭林

(湖北医药学院附属东风医院药剂部,湖北十堰 442008)

摘要 目的 建立测定利夫康洗液中蛇床子素含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 以日本 DL-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm,5 μm)为色谱柱,甲醇-水(65:35)为流动相,检测波长 322 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果 蛇床子素在浓度为 2~100 μg·mL⁻¹ 范围内有良好的线性关系,相关系数为 0.999 5,精密度相对标准偏差(RSD)为 1.52%,平均加样回收率为 99.7%,RSD 为 1.12%。结论 该方法操作简单、快速、准确,可用于利夫康洗液中蛇床子素的含量测定。

关键词 利夫康洗液;蛇床子素;色谱法;高效液相;含量测定

中图分类号 R286;R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2011)06-0785-02

Content Determination of Osthole in Lifukang Lotion by HPLC

LI Peng, CHEN Qin-hua, ZHU Jun, PENG Lin (Department of Pharmacy, Dongfeng Hospital Affiliated with Hubei Medical University, Shiyan 442008, China)

ABSTRACT Objective To establish a method for detecting osthole in lifukang lotion by RP-HPLC. **Methods** RP-HPLC was performed on DL-C₁₈ column (4.6 mm×150 mm,5 μm) with methanol: water (65:35) as mobile phase at flowing rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 322 nm. **Results** The liner range of osthole was over 2-100 μg·mL⁻¹, $r=0.999\ 5$. The precision expressed as the relative standard deviation (RSD) for the method was 1.52%. The mean extraction recovery was 99.7%, RSD was 1.12%. **Conclusion** The method is proved to be accurate, sensitive and reliable, which is suitable for the determination of osthole in lifukang lotion.

KEY WORDS Lifukang lotion; Osthole; HPLC; Content determination

利夫康洗液由苦参、黄柏、蛇床子、白鲜皮、黄连、地肤子、花椒、赤芍、板蓝根、何首乌、土茯苓等 11 味中药组成,具有清热燥湿、杀虫止痒功效,常用于真菌性、滴虫性阴道炎以及湿疹、接触性皮炎和体股癣。蛇床子素是蛇床子中主要有效成分之一,现代药理实验研究证明其具有抗滴虫作用和性激素样等作用^[1-4]。为了控制该洗液质量,笔者对利夫康洗液中的蛇床子素进行含量测定,为利夫康洗液质量评价提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Ultimate3000 高效液相色谱仪包括 Ultimate3000 泵, Ultimate3000 二极管阵列检测器,四元低压混合系统,Chromleon 工作站; KQ-100DB 型数控超声波清洗器; HP-01 溶剂过滤器; 日本岛津 AEU-210 电子天平; TG16G 离心机。

1.2 试药 蛇床子素(中国药品生物制品检定所,批号:110822-20040); 甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其余溶剂均为分析纯; 利夫康洗液(西安太极药业有限公

司,批号:090102,091105,091005)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性条件 色谱柱:日本 DL-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm,5 μm); 流动相:甲醇-水(65:35); 检测波长为 322 nm; 柱温:30℃; 流速:1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按蛇床子素计算应不低于 2 000,主峰与相邻杂质峰的分离度应符合要求。

2.2 溶液的制备 对照品溶液的制备:精密称取蛇床子素对照品 10.0 mg 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,得贮备液,精密吸取贮备液 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,制成含蛇床子素为 100 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

供试品溶液的制备:精密吸取利夫康洗液 30 mL,水浴锅中(95℃)挥干,加入 30 mL 乙醚溶解,过滤,滤液挥干,加入甲醇 5 mL,完全溶解,过孔径 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

阴性对照溶液的制备:取按照利夫康洗液的制备工艺配制独缺蛇床子的阴性样品 30 mL,照供试品溶液制备方法,制成阴性对照溶液。

2.3 专属性考察 按“2.1”项下色谱条件,精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10 μL 分别注入高效液相色谱仪,供试品溶液色谱图上在与对照品溶液相应的位置上有一相同的色谱峰。而阴性

收稿日期 2010-03-24 **修回日期** 2010-11-08

基金项目 * 湖北省自然科学基金资助项目(基金编号:2009ZRY793)

作者简介 李鹏(1968-),男,湖北十堰人,副主任药师,硕士,从事医院药学工作。电话:0719-8272346, E-mail:dfyypl@163.com。

对照品溶液在此保留时间无吸收峰,表明阴性对照品对测定无干扰。色谱图见图 1。

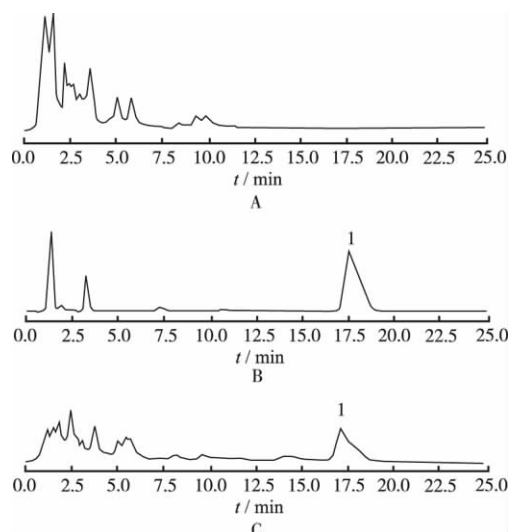


图 1 3 种溶液的高效液相色谱图

1. 阴性对照品溶液; B. 对照品溶液; C. 样品溶液; 1. 蛇床子素

Fig.1 HPLC Chromatograms of 3 kinds of solution

A. negative control; B. reference substance; C. sample; 1. osthole

2.4 线性关系和最低检测限 精密吸取蛇床子素对照品溶液,加甲醇使溶解,稀释至刻度,使其浓度分别为 2,10,20,50,80,100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;精密吸取上述溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪,以溶液浓度(X)对峰面积(Y)作线性回归,得回归方程为: $Y = 0.5205X - 0.0454$, $r = 0.9995$ 。由上可知,在 2 ~ 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,蛇床子素浓度与峰面积线性关系良好。在信噪比(S/N) 为 3 时,测得最低检出限为 0.05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相对标准偏差(RSD) 为 3.75%。

2.5 精密度、重复性和稳定性实验 精密度实验:取供试品溶液,连续进样 6 次,记录峰面积,计算蛇床子素峰面积的 RSD 为 1.52%。

重复性实验:取同一批样品 6 份,按“2.2”项下供试品溶液制备方法制备,进样分析,记录峰面积,计算蛇床子素峰面积的 RSD 为 1.63%。

稳定性实验:精密吸取同一供试品溶液,于室温放置 12 h,分别在 0,2,4,8,12 h 进样测定,记录峰面积,计算蛇床子素峰面积的 RSD 为 2.01%。表明处理后所得供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 加样回收率 取同一供试品(9.70 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 6 份,分别加入蛇床子素对照品(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.0, 2.0,5.0 mL,各 2 份,按“2.2 项”下供试品溶液制备方法制备,并按“2.1”项下色谱条件进样 10 μL 测定,结果蛇床子素平均回收率 99.7%, RSD 为 1.12%,见表 1。

表 1 蛇床子素加样回收率实验结果

Tab.1 The recovery of osthole			μg
原有量	加入量	测得量	回收率/%
291.0	100.0	390.0	99.0
291.0	100.0	391.0	100.0
291.0	200.0	493.0	101.0
291.0	200.0	490.0	99.5
291.0	500.0	782.0	98.2
291.0	500.0	793.0	100.4

2.7 样品的测定 取本品 3 批(批号分别为 090102, 091105,091005) 适量,按“2.2”项下供试品溶液制备方法制备 3 份,精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积,由外标法计算蛇床子素含量分别为 9.70, 10.25 和 8.68 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,即利夫康洗液中蛇床子素平均含量为 9.54 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

本实验曾考察了几种不同的流动相系统^[5-7],最后确定用甲醇-水(65 : 35) 作为流动相,较乙腈简单且经济,蛇床子素与其他成分能达到基线分离,且理论塔板数高,所建立利夫康洗液中的蛇床子素的高效液相色谱含量测定方法专属性强,精密度好,回收率高,适用于其质量评价。

DOI 10.3870/yydb.2011.06.032

参考文献

- [1] 黄良永,郑江萍,甘春英. 独活药材及其配方颗粒中蛇床子素的含量比较 [J]. 医药导报,2010,29 (1): 90 - 91.
- [2] 苏晓乾,杨建宏. 蛇床子素提取工艺优化研究 [J]. 天津药学,2009,21(6): 3 - 4.
- [3] 尚飞,王亚侠,陈芳晓,等. 正交实验优化蛇床子素的提取工艺 [J]. 中国药师,2006,9 (7): 621 - 622.
- [4] 刘新,石峰,吴之琳. 正交实验法优选洁康洗剂提取最佳工艺条件 [J]. 医药导报,2008,27 (5): 585 - 587.
- [5] 周嵩煜,周文泉. 高效液相色谱法测定温肾止痛膏中蛇床子素的含量 [J]. 医药导报,2005,24 (6): 533 - 534.
- [6] 石继连,何群,杨梓懿,等. 不同炮制方法对蛇床子中蛇床子素含量的影响 [J]. 中国药师,2007,10 (1): 44 - 46.