

HPLC 测定蛇床子软膏中蛇床子素的含量

张根元 林 鹰¹ 林力行 向仁德 张新勇(南京 210009 江苏省药物研究所;¹ 中国药科大学 96 届毕业实习生, 现在广西南宁妇幼保健院)

摘要 提出了用高效液相色谱法测定蛇床子软膏中蛇床子素的含量。以 ODS(4.6mm × 200mm)为色谱柱,流动相为甲醇-水(80:20),检测波长为 322nm,线性范围在 8.0 ~ 1000μg/ml,平均回收率为 99.1%,相对标准偏差为 0.94%。

关键词 蛇床子;蛇床子素;HPLC

Studies on the determination of unguentum fructus cnidii by HPLC

Zhang Genyuan(Zhang GY), Lin Yin(Lin Y), Lin Lixin(Lin LX), et al(Jiangsu Institute of Material Medica, Nanjing 210009)

ABSTRACT A HPLC method was developed for the determination of osthol in unguentum fructus cnidii. The column was ODS(4.6mm × 200mm). The mobile phase consisted of methanol-water(80:20). The detective wavelength was 322nm. The linearity ranged from 8.0 ~ 1000μg/ml. The average of recoveries was 99.1%. The relative standard deviations was 0.94%.

KEY WORDS fructus cnidii, osthol, HPLC

蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium Monnieric*(1) Cuss 的干燥成熟果实。其提取物主要成分是香豆素类化合物^[1,2],有人曾用薄层-紫外法测定蛇床子含量,但较繁琐,药典用薄层扫描法测定含量^[3],本文建立了 HPLC 测定蛇床子软膏中蛇床子素的含量。

1 试剂与仪器

1.1 试剂:甲醇(AR),乙醇(AR);蛇床子素对照品(本所植化室提供,经四大光谱确证,定纯度为 99.5%以上)。

1.2 仪器:Waters 510 泵,7125 定量进样阀(美国),10μl 定量管,SPD-2AM 紫外检测器(日本岛津),C-R3A 数据处理机(日本岛津),H66025 超声波清洗机(无锡市超声电子设备厂)。

2 色谱条件

ODS 色谱柱(5μ,4.6mm × 200mm),流动相为甲醇-水(80:20),流量 1.0ml/min,检测波长 322nm,室温。

3 最大检测波长的选择

取蛇床子素对照品适量,加流动相溶成约含蛇床子素 8μg/ml 的溶液,照分光光度法(中国药典 95 年版二部附 IV),在 200 ~ 200nm 范围内扫描,其紫外最大吸收波长为 322 ± 1nm。另取蛇床子软膏处方量的空白辅料同法操作,在 322nm 处无吸收。

4 线性关系

取 60℃ 减压干燥至恒重的蛇床子素对照品适量,精密称定,加乙醇溶解,并配制成 8 ~ 1000μg/ml 的 6 个浓度梯度,按色谱条件,取 10μl 注入色谱仪,并以药品浓度 $c(\mu\text{g/ml})$ 对其相应峰面(mv·s)统计,得回归方程为: $A = 50.5237 + 8.9147c$ ($n = 6, r = 0.9999$)。

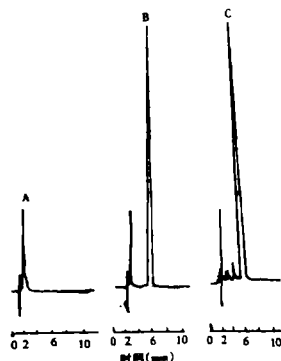
5 回收率测定

取已知含量的蛇床子软膏约 100mg,干燥至恒重的

蛇床子素对照品约 10mg,精密称定,置于 100ml 量瓶中,加适量乙醇超声 10min,并加乙醇至刻度,摇匀,过滤,取续滤液和约 0.2mg/ml 的蛇床子素对照品溶液各 10μl,分别注入色谱仪记录峰面积,计算回收率。计算结果,回收率分别为 98.1%,100.1%,100.0%,98.7% 和 98.4%,平均回收率为 99.1% ($n = 5, RSD = 0.94\%$)。

6 含量测定

取蛇床子软膏约 100mg,精密称定,置于 50ml 量瓶中,加适量乙醇超声 10min,并加乙醇至刻度,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液;另取干燥至恒重的蛇床子素对照品适量,加乙醇制成每毫升中含 0.2mg 蛇床子素的对照品溶液。取供试品溶液和对照品溶液各 10μl,分别注入色谱仪,根据对照品溶液蛇床子素峰的保留时间确定供试品溶液中的主峰蛇床子素。根据对照品溶液的峰面积计算样品中蛇床子素含量,几个批号:960314,960315,960320,9601203,961204 样品的含量分别为 9.30%,9.33%,9.50%,9.59%,9.95%。其 HPLC 图谱见附图。



A,B,C 分别为空白辅料,蛇床子素对照品及蛇床子软膏的 HPLC 图,可见辅料对测定无干扰。

7 精密度与重现性试验

取 0.2mg/ml 的蛇床子素对照品溶液,依法连续进样 6 针,计算精密度,结果平均峰面积为 844690 ($n = 6$, $RSD = 0.95\%$);另分别称取同一批号样品 6 份,每份约 100mg,精密称定,按含量测定项下方法测定含量结果平均含量为 8.82% ($n = 6$, $RSD = 1.86\%$)。

8 日间及日内误差

取含量测定项下样品,用同一批样品在 4 天内,每天称样、制样,每个样品进样 4 次,计算日间误差,结果 $RSD = 1.2\%$;同法,在同一天内连续制样 4 个并各进样 4 次,计算日内误差,结果 RSD 为 0.95%。

9 结果与讨论

9.1 程大敦^[4]等曾用 HPLC 测定了蛇床子粗提取物中 6 种成分的含量。由于该提取物较粗,6 种香豆素成分总含量较低,大多在 10% ~ 20% (十多个批号实测结果)。故他们对 6 个成分分别加以定量。而本品为蛇床子乙醇提取物(总香豆素)制成的软膏剂,其总香豆素绝大多数在 90% 以上(少数 85% 以上),且主成分蛇床子素

在总香豆素中占到 90% ~ 95% 以上(根据多批样品的实测结果得到的结论)。故本法以蛇床子素为含量测定指标,而对其它含量很少(一般为 5% ~ 10%)的香豆素不作一定量。

9.2 本品是由蛇床子总香豆素制成的软膏剂,本文的回收率试验采用加样回收率测定法,即先测定软膏含量,然后在已知含量的软膏中加入适量的对照品,混合,再进行含量测定,计算回收率。

参考文献

- 1 向仁德,傅晓红.蛇床子化学成分的研究(I)3.中草药,1984,15(9):14.
- 2 向仁德,王丹,傅晓红.蛇床子化学成分的研究(II).中草药,1986,17(2):6.
- 3 中国药典.1995:277.
- 4 程大敦,赵俊.蛇床子中香豆素类的含量测定.药物分析杂志,1987,7(2):112.

收稿日期:1997-06-09