

薄层扫描法测定冻疮涂膜剂中蛇床子素的含量

★ 曹智勇 (江西中医学院 南昌 330006)

关键词:冻疮涂膜剂;蛇床子素;含量测定

中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

冻疮涂膜剂系由临床经验方研制而成的新制剂^[1],具有温经散寒、祛湿消肿之功效,用于冻疮的治疗,效果显著。笔者曾对主药麻黄中的麻黄碱进行了含量测定研究^[2]。为了更好控制该制剂质量,现采用薄层扫描法对另一主药蛇床子中的蛇床子素进行了含量测定。

1 实验仪器及试剂

1.1 仪器 CS-930 薄层扫描仪(日本岛津公司);薄层用硅胶 G(青岛海洋化工厂);薄层铺板器(重庆南岸新力实验仪器厂);玻璃烧杯层析仪,200 mm×200 mm(上海信谊仪器厂);自动喷雾显色仪(日本岛津);三用紫外线分析仪(上海顾村光学仪器厂)。

1.2 试剂 供试品:冻疮涂膜剂(自制),批号:000906、000922、001010、001021、001105、001125。对照品:蛇床子素(含量测定用,0822-9401)对照品,蛇床子对照药材(Fructus cnidii),均购于中国药品生物制品检定所。各单味药材:购于江西省医药公司。所用试剂均为 AR 级。

2 实验方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 精密吸取本品 5 mL,加 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液 20 mL,边加边搅拌,静置 1 小时,滤过,残留物再加氢氧化钠溶液 15 mL 提取 2 次,水浴加热提取 5 分钟,滤过,合并氢氧化钠溶液,以盐酸调节 pH3~4,以乙醚提取 3 次(40、30、30 mL),合并乙醚液,回收乙醚,残留物以甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,作为供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的蛇床子素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.26 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 薄层色谱条件 以羧甲基纤维素钠为黏合剂

的硅胶 G 薄层板;以正己烷-醋酸乙酯(6:1)为展开剂。

2.4 薄层扫描条件 扫描参数为: $\lambda_s = 320 \text{ nm}$, $\lambda_R = 260 \text{ nm}$,线性参数 SX = 3,狭缝 1.2 mm×1.2 mm,双波长反射锯齿形扫描。

2.5 标准曲线的绘制 照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B)试验,精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5、6、7 μL ,点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,晾干,置紫外光灯(365 nm)下定位,按薄层色谱法进行扫描,波长为 $\lambda_s = 320 \text{ nm}$, $\lambda_R = 260 \text{ nm}$,SX = 3,测定各斑点峰面积积分值,得回归方程: $A = 29\,681.39C + 3\,693.976$, $r = 0.999\,7$ 。线性范围:0.26~1.82 μg 。可采用外标两点法测定样品的含量。

2.6 稳定性测定 精密吸取对照品溶液 1、3 μL ,供试品溶液 1 μL 点样,按含量测定方法操作,每隔 30 分钟测量样品斑点峰面积积分值,共检测 3 小时。结果: $RSD = 0.94\%$;表明本品斑点峰面积值在 3 小时内基本保持不变。

2.7 精密度的测定 精密吸取对照品溶液 1、3 μL ,供试品溶液 1 μL 点 4 点,按含量测定方法操作,测量供试品斑点峰面积积分值,结果: $RSD = 2.31\%$ 。

2.8 回收率的测定 精密吸取已知含量的样品 5 mL,共 5 份,每份样品中分别精密加入 4.0~5.0 mg 蛇床子素对照品,按含量测定方法、条件进行试验,测得各样品中所含蛇床子素的量(见表 1),并计算对照品回收率。

表1 蛇床子素薄层扫描加样回收率实验结果

样品原有量 /mg	标准品加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 (%)
4.53	4.86	9.31	98.35
4.53	4.05	8.55	99.26
4.53	5.00	9.43	98.00
4.53	3.73	8.15	97.05
4.53	3.73	8.15	97.05
4.53	4.40	8.88	98.86

2.9 重复性试验 精密吸取本品同一批样品共6份,每份5 mL,按含量测定方法操作、展开、测定,测得各份供试品浓度, $RSD = 1.63\%$ 。

2.10 样品的含量测定 取本品样品6批,照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VIB)试验,精密吸取对照品溶液1 μL 、3 μL 和供试品溶液1 μL ,分别交叉点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,晾干,置紫外光灯(365 nm)下定位。照薄层扫描法进行扫描,波长: $\lambda_S = 320 \text{ nm}$, $\lambda_R = 260 \text{ nm}$, $SX = 3$;测定供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值并进行计算。结果见表2。

表2 蛇床子素含量测定结果($n=3$)

批号	含量 /mg, mL ⁻¹	RSD(%)	批号	含量 /mg, mL ⁻¹	RSD(%)
000906	0.951	1.63	001021	1.201	0.70
000922	0.980	1.96	001105	1.147	0.89
001010	1.03	1.44	001125	1.226	1.11

根据以上6批样品含量测定结果,将本品的含量限度暂定为:每1 mL含蛇床子素($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$)不得少于0.86 mg。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法摸索 蛇床子素是蛇床子中的主要有效成分之一,能溶于醇、氯仿、丙酮及碱性溶液而不溶于水^[3]。故以0.1 mol/L的氢氧化钠溶液为溶媒,将蛇床子素从制剂中提出,再经酸化后用乙醚萃取,进一步纯化样品,并配合薄层检查(将碱水提取3次后的残留物,再加碱水10 mL提取1次,其余同含量测定项下供试品溶液制备操作,

用0.5 mL甲醇溶解残留物,备用;另酸化后萃取的第4次、第5次乙醚分别蒸干,并用0.5 mL甲醇溶解备用。以上供试品分别点8 μL 于同一硅胶G薄层板上,并以蛇床子素对照品对照,按含量测定项下进行试验,结果显示:样品提取3次后的供试品和第4、5次乙醚液中均未检出蛇床子素斑点),试验结果表明:(1)制剂中所含蛇床子素经碱水提取3次即可被提尽;(2)酸化后,用乙醚为溶剂,从酸水中萃取3次即能将蛇床子素提取完全。根据以上结果制定的方法制备的供试品溶液所含杂质少。

3.2 薄层色谱条件的选择 分别以苯-醋酸乙酯(30:1)、正己烷-醋酸乙酯(6:1)为展开剂展开,结果前者的蛇床子素斑点的 R_f 值较高,且上下均有很近的斑点干扰,而后的蛇床子素斑点的 R_f 值较适宜,且与上下两斑点的分离度尚可;经反复摸索,最后以正己烷-醋酸乙酯(6:1)获良好分离效果, R_f 值0.5左右,经扫描结果显示上、下无斑点干扰。故选用正己烷-醋酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,进行含量测定。

3.3 测定波长及主要扫描参数的选择 将按色谱条件展开的薄层板,置紫外灯光(254 nm)下定位,用CS-930薄层扫描仪分别对蛇床子素对照品斑点及供试品色谱中相应位置上的斑点,在200~370 nm范围内进行光谱扫描,结果供试品与对照品光谱图一致,并在320 nm处有最大吸收和260 nm处有最小吸收。不含蛇床子的阴性样品色谱中,在与蛇床子对照品色谱相应位置上无斑点,在上述波长处无吸收。因而本法选用320 nm为测定波长,260 nm为参比波长。

参考文献

- [1]曹智勇,虞金宝,应萍.冻疮涂膜剂制备工艺研究[J].江西中医学院学报,2001,13(4):161
- [2]曹智勇,虞金宝.冻疮涂膜剂的质量标准研究[J].江西中医学院学报,2003,15(3):48
- [3]柯铭清.中草药有效成分理化与药理特性[M].长沙:湖南科学技术出版社,1982.417

(收稿日期:2005-04-18)

征订、征稿启事

《江西中医学院学报》创刊于1988年,为华东地区优秀期刊,现已跻身全国高等中医药院校学报发行量最大的前列。近年来,凭着新世纪奋进的气势,大胆革新办刊理念,全面改版,调整栏目,获得业界及广大读者、作者的肯定。我们将加大改革的步伐,更加坚定地贯彻“全面提升学术品位,扩大学术影响,推进中医药事业发展”的办刊思想,突出“理论型、争鸣型、研究型”的办刊特色,重点发表理论论著、争鸣文章和科学研究报告,以崭新的面貌奉献给各位读者。

《江西中医学院学报》(ISSN 1005-9431, CN 36-1192/R)为双月刊,逢双月15日出版,面向国内外公开发行人,邮发代号为44-79。每期80页,大16开。每期定价:5.00元。

欢迎新老作者踊跃赐稿!欢迎广大读者积极订阅!