

HPLC 法测定灰指灵药膏中间苯二酚、水杨酸、苯甲酸的含量

傅承清, 张晋云(贵州省电力医院, 贵州 贵阳 550002)

摘要 目的:建立灰指灵药膏中间苯二酚、水杨酸、苯甲酸的含量测定方法。**方法:**采用高效液相色谱法,以 C_{18} 为固定相, 甲醇-磷酸二氢钠(40:60)为流动相, 测定波长为 254nm。**结果:**间苯二酚、水杨酸、苯甲酸分别在 40.0~200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 其峰面积值与浓度具有良好的线性关系($r=0.9999$ 、 0.9997 、 0.9999), 平均回收率分别为 98.1%、97.9%、97.7%。**RSD** 分别为 1.88%、1.82%、1.46%。**结论:**该方法可靠, 精密度高, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词 高效液相色谱法; 灰指灵药膏; 含量测定

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2004)06-0355-03

Determination of resorcinol, salicylic acid, benzoic acid in hueizhilin ointment by high-performance liquid chromatography

FU Cheng-qing, ZHANG Jin-yun(Guizhou Electricity Power Hospital, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method of determination of contents in Hueizhilin ointment. **Methods:** HPLC was used with C_{18} column as stationary phase and methanol-sodium dihydrogen phosphate(40:60) as mobile phase. The detection wavelength was 254nm. **Results:** The calibration curve is linear between 40.0~200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of resorcinol salicylic acid and benzoic acid. The average recovery was 98.1%, 97.9%, 97.7% with **RSD** of 1.88%, 1.82%, 1.46%. **Conclusion:** The method is reliable, accurate and can be used for the determination of the contents of Hueizhilin ointment.

KEY WORDS high-performance liquid chromatography; Hueizhilin ointment determination of content

灰指灵药膏是一种主要治疗甲真菌病(灰指甲)及手足癣的软膏制剂, 具有抑制和杀真菌、溶解角质的作用。其处方主要由间苯二酚、水杨酸、苯甲酸等组成, 用容量分析和一般紫外分光光度法均不能分别测定其含量, 相互之间有一定干扰。我们用高效液相色谱法^[1], 一次进样即可完成 3 种成分的含量分析。现将本品测定方法报道如下。

1 仪器与试剂

TSP 高效液相色谱系统, P4000 泵, UV-3000 检测器, PC1000 色谱工作站。灰指灵药膏(贵州电力职工医院研制), 间苯二酚、水杨酸及苯甲酸均为分析纯(含量不少于 99.5%), 对氨基苯甲酸、磷酸二氢钠均为分析纯, 甲醇为色谱纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 C_{18} 柱(4.6 \times 250mm), 流动相: 甲醇-0.1mol/L, 磷酸二氢钠(40:60) 流速 1mL/min, 检测波长 254nm。

2.2 检测波长的设定 取间苯二酚、水杨酸及苯甲酸对照品分别配制适当浓度的水溶液, 于紫外分光光度计分别扫描, 从光谱图中可见, 在 254nm 波长附近均有吸收, 而且吸收系数相差不大, 故选择 254nm 作为含量测定的波长(见图 1)。

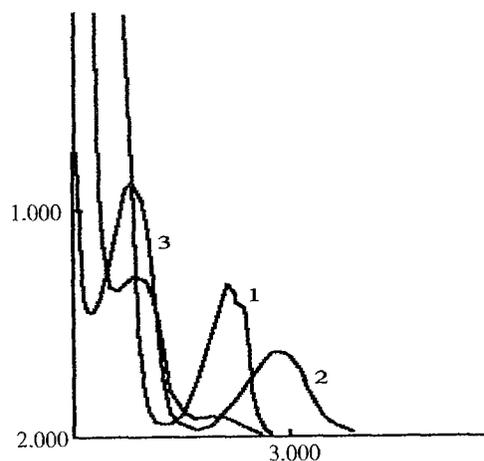


图 1 间苯二酚、水杨酸及苯甲酸对照品紫外吸收图谱
1-间苯二酚, 2-水杨酸, 3-苯甲酸

2.3 系统适应性试验 在该色谱条件下,理论板数以间苯二酚峰计算,应不低于 5000,对氨基苯甲酸、间苯二酚、水杨酸、苯甲酸峰完全分开,峰之间的分离度较佳(见图 2)。

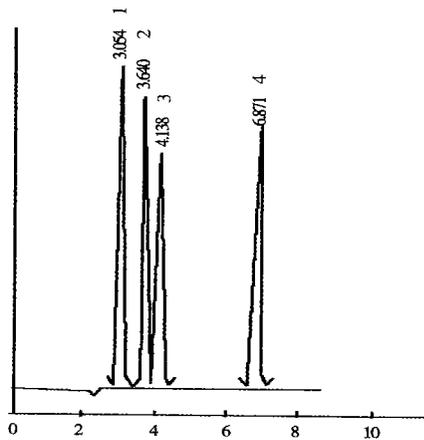


图 2 内标、间苯二酚、水杨酸及苯甲酸对照品 HPLC 图

1 - 内标, 2 - 间苯二酚, 3 - 水杨酸, 4 - 苯甲酸

2.4 辅料及其余组分干扰的试验 除不加间苯二酚、水杨酸和苯甲酸外,按处方量,称取各辅料及其余组分,照含量测定项下步骤操作,但不加内标物,记录色谱图,结果在对照峰及内标峰处未出现色谱峰,试验表明,辅料及其余组分无干扰。

2.5 线性试验 分别精密称取间苯二酚、水杨酸、苯甲酸对照品各 0.1g,置 100mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。另取对氨基苯甲酸适量,加水溶解并稀释成每 1mL 含 0.1mg 溶液作为内标溶液。分别精密量取对照品溶液各 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL,分别置 25mL 量瓶中,各加内标溶液 1.0mL 加水稀释至刻度,取 10 μ L 注入液相色谱仪。各组分与内标峰面积比值与各进样浓度进行回归,得线性方程:间苯二酚 $Y = -1.477 + 115.853X$, $r = 0.9999$; 水杨酸 $Y = -4.768 + 159.501X$, $r = 0.9997$; 苯甲酸 $Y = -0.5347 + 59.241X$, $r = 0.9999$ 。

结果表明,间苯二酚、水杨酸、苯甲酸分别在 40.0 ~ 200.0 μ g/mL 范围内呈线性关系。

2.6 回收率试验 取本品约 0.6g,精密称定。精密加入一定量间苯二酚、水杨酸及苯甲酸对照品,按含量测定方法操作,每份进样 2 次取平均值,结果见表 1。

2.7 样品测定 取本品充分混合均匀,精密称取约 0.6g,置分液漏斗中加温热的石油醚 15mL,振摇使基质溶解,用水分次提取(30、20、20 及 10mL)分取水层置 100mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,过

滤,精密量取续滤液 10mL,内标溶液 10mL,置 25mL 量瓶中,加水稀释至刻度,取 10 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积,每份进样 2 次,取平均值计算即得。结果见表 2。

表 1 回收率测定结果

加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
间苯二酚				
29.60	28.85	97.48		
29.34	29.29	99.82	98.10	1.51
31.01	30.10	97.06		
水杨酸				
29.27	28.19	96.31		
29.80	29.64	99.46	97.9	1.61
30.61	30.00	98.02		
苯甲酸				
29.60	28.65	96.80		
29.29	28.57	97.53	97.70	0.94
30.65	30.23	98.63		

表 2 样品含量测定结果

标示含量(%)	平均值(%)	RSD(%)
间苯二酚		
97.16		
97.08	98.20	1.88
100.32		
水杨酸		
103.36		
101.42	101.5	1.82
99.66		
苯甲酸		
99.48		
99.04	98.4	1.46
96.80		

3 讨论

灰指灵药膏中水杨酸有抗真菌、止痒,可抑制真菌生长、溶解皮肤角质,通过溶解角质层细胞间结合物而使角质松解作用,最后形成剥脱,是目前应用的一种安全、耐受良好、无色的皮肤广谱抗菌剂^[2]。苯甲酸具有抗真菌作用,对浅部真菌有抑制和杀灭作用,可抑制真菌生长繁殖,溶解角质。间苯二酚有杀真菌及止痒作用^[3]。

由于本品的 3 种药物主要有效成分的化学结构相近,用容量分析和一般紫外分光光度法均不能分别测定其含量,相互之间有一定干扰。我们用对氨基苯甲酸为内标,用高效液相色谱法,一次进样即可完成 3 种成分的含量分析,该方法可靠,精密度高,可作为该制剂的质量控制。

参考文献:

- [1] 中国药典 2000 版. 二部[S]. 附录, 2000; 32 ~ 34.
[2] 赵辨: 临床皮肤病学[M]. 第 2 版. 南京: 江苏科学技术出版

社, 1990: 176.

- [3] 金有豫, 王汝龙. 新编临床药物手册[M]. 重庆: 重庆出版社, 1990: 518.

收稿日期: 2003 - 11 - 22

假劣药品鉴别方法的研究进展

张卫军¹, 张中湖², 陆峰³, 柴逸峰³ (1. 浙江省宁波市慈城镇 92602 部队医院, 宁波 315031; 2. 山东省济宁市药检所, 济宁 272000; 3. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 梳理假劣药鉴别的各种分析手段, 为药品检验科技人员提供参考。方法: 查阅国内外相关文献资料并作综合比较。结果: 各种传统方法、光谱分析方法、色谱和电泳分析方法对假劣药鉴别各有优劣与特点。结论: 熟悉各种分析方法的优劣与特点, 利于针对性地选择鉴别方法。

关键词 假劣药; 鉴别; 光谱法; 色谱法

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0111 (2004) 06 - 0357 - 03

药品作为一种特殊商品, 安全有效是其必须的要求。在商业利益的驱动下, 药品(包括化学药品与中药)的制假售假现象时有发生。化学药品制假主要存在以非药品冒充药品、以它种药品冒充药品、擅自改变辅料、药品晶型不合格等现象。有些化学药品类的假药甚至能通过药典该品种所有指标的检测, 只是制剂辅料与“真药”辅料的来源或质量不同, 而辅料的质量一般并不在常规检测范围之内。中药由于药材本身质量良莠不齐、有效成分难明确等原因, 存在以非药材冒充药材、将假药加工成饮片、中药中掺入伪品或化学药品、生药材质量不合格、各类混淆品作为同种药材混用等现象, 导致中药品种侵权更加普遍, 严重影响了用药的安全有效性。

打击假劣药的前提条件之一, 就是在制假手段日益“高明”的今天, 实现假劣药的准确、快速、简便的鉴别。本文对此类方法作一综述。

1 传统方法

1.1 基源鉴别 运用植(动)物的分类学知识, 对中药的来源进行鉴定, 确定其正确学名。本法可对某些中药原药材混淆品进行鉴别, 但难以辨别粉碎的药材尤其是制成品。

1.2 性状鉴别 性状鉴别包括形状、颜色、气味、质地、表面特征、溶解度、粘稠度、沸点、熔点、比重、比

旋度等。通过对药品基本性状的比较, 可实现某些伪劣药品的鉴别。如某些注射剂通过澄明度检查就可以简便地鉴别出某些劣药。观察何首乌的横断面有无云锦纹可以鉴别出一些伪品^[1]。本法操作简便、快速, 不失为制假手段粗劣的某些假劣药品普筛的基本手段。但由于性状鉴别一般只运用了药物非本质的少量信息, 实际应用中受到一定的限制。

1.3 显微鉴别 利用显微镜观察中药制剂中原药材的组织细胞或内含物等特征来鉴别药品的真伪, 本法也是简捷可靠的中药品种鉴别手段之一。适用于药材粉碎后直接制成制剂或添加有粉末药材的制剂, 但不适用于经制剂后其显微特征消失改变的药材及中药复方制剂。随着显微技术的发展, 偏光显微镜、荧光显微镜、紫外光显微镜、显微摄影技术^[2]等在中药的鉴别方面将继续发挥作用, 特别是对某些以非药材冒充药材、药材混淆品有较好的鉴别方法。

2 光谱分析方法

2.1 紫外光谱法(UV) 紫外光谱法一般利用药物的紫外吸收光谱峰或谷的波长位置、强度及其比值进行鉴别, 但紫外光谱图特征性不强, 且结构相似的物质光谱图都较相近, 造成鉴别上的困难。

紫外谱线组法^[3]是以样品所含化学成分的总体光谱效应为依据, 即以不同极性溶剂所浸提中药各部位的整体紫外光谱的吸收峰数目及峰位值为特征进行鉴别, 是当前评价中药及其制剂真伪优劣的

基金项目: 上海市科学技术发展基金资助项目(01DJ19012)

作者简介: 张卫军(1979-), 男, 药师。

通讯作者: 陆峰(1971-), 男, 博士, 副教授。Tel: 021-65484265, Email: lookingll@etang.com