

HPLC法同时测定复方地克软膏中3组分的含量

任睿^{1*}, 陈林¹, 李英², 李磊², 张璐², 张园园^{2#} (1.广东省药品检验所, 广州 510000; 2.北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4277-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.36

摘要 目的:建立同时测定复方地克软膏中氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Thermo Hypersil BDS C₁₈,流动相为甲醇-0.05 mol/L磷酸二氢钾(pH=5.7)(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为235 nm,柱温为35 ℃,进样量为10 μl。结果:氯霉素、克霉唑、醋酸地塞米松检测质量浓度分别在0.10~0.40、0.05~0.20、0.03~0.12 mg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系;精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;回收率分别为95.42%~103.28%、97.12%~102.96%、95.10%~102.69%,RSD分别为2.8%、1.8%、2.9%(n=9)。结论:该方法简便快速、结果准确、重复性好,适用于复方地克软膏及相关制剂的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;复方地克软膏;氯霉素;克霉唑;醋酸地塞米松

Simultaneous Determination of 3 Constituents in Compound Dike Ointment by HPLC

REN Rui¹, CHEN Lin¹, LI Ying, LI Lei², ZHANG Lu², ZHANG Yuan-yuan² (1.Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510000, China; 2.School of TCM, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of chloramphenicol, clotrimazole and dexamethasone acetate in compound dike ointment. METHODS: HPLC was performed on the column of Thermo BDS Hypersil C₁₈ with methanol-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate (pH=5.7) (gradient elution) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 235 nm, column temperature was 35 ℃ and volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.10-0.40 mg/ml for chloramphenicol, 0.05-0.20 mg/ml for clotrimazole and 0.03-0.12 mg/ml for dexamethasone acetate; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 95.42%-103.28% (RSD=2.8%, n=9), 97.12%-102.96% (RSD=1.8%, n=9) and 95.10%-102.69% (RSD=2.9%, n=9), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate and reproducible, and suitable for the quality control of compound dike ointment and other related preparation.

KEYWORDS HPLC; Compound dike ointment; Chloramphenicol; Clotrimazole; Dexamethasone acetate

复方地克软膏商品名为肤宁霜,是由氯霉素、克霉唑及醋酸地塞米松加苯酚、羟苯乙酯、甘油、硬脂酸、十八醇、液体石蜡、三乙醇胺、樟脑、薄荷脑和纯化水等配制而成,具有抗真菌、消炎等作用,主要用于过敏性皮炎、接触性皮炎、婴儿皮疹、夏季皮疹、蚊叮虫咬等。该制剂主要成分为氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松,其中氯霉素为酰胺醇类抗菌药物,克霉唑为广谱抗真菌药,醋酸地塞米松为肾上腺皮质激素类药物。为控制复方地克软膏的质量,保证药物的安全、有效,本试验参照文献^[1-9]建立了采用高效液相色谱(HPLC)法测定其中3种主要成分含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1100 HPLC系统,包括G1322A脱气装置、G1311A四元泵、G1313自动进样器、G1316柱温箱、G1315二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);HP化学工作站(美国惠普公司);CP225D电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

* 主管药师。研究方向:药用辅料标准的研究制订。电话:020-81853846。E-mail:dudu_ren@126.com

通信作者:副教授。研究方向:中药质量控制。电话:010-84738651。E-mail:choenen@163.com

复方地克软膏(批号:141009、141017)和空白基质由深圳市宝安区西乡人民医院提供;氯霉素原料药(批号:CH130401)购自南京白敬宇制药有限责任公司;克霉唑原料药(批号:20130102)购自广州汉普医药有限公司;醋酸地塞米松原料药(批号:20130102)购自天津天药药业股份有限公司;氯霉素对照品(批号:130303-200614)、克霉唑对照品(批号:100037-200306)、醋酸地塞米松对照品(批号:100122-200805)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Thermo Hypersil BDS C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇(A)-0.05 mol/L磷酸二氢钾(pH=5.7)(B),梯度洗脱(0~5 min,40%A;5~15 min,40%→80%A;15~19 min,80%A;19~20 min,80%→40%A;20~25 min,40%A);流速:1.0 ml/min;检测波长:235 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,氯霉素峰、克霉唑峰、醋酸地塞米松峰的理论板数均大于10 000,分离度均大于20。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松对照品各适量,用甲醇溶解并定容于同一10 ml量

瓶中,摇匀,制成每1 ml中分别含3种成分2.0、1.0、0.6 mg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品0.6 g,置于25 ml量瓶中,加甲醇20 ml,密塞,置于50℃水浴中加热2 min,使基质完全融化,放冷,用甲醇定容,摇匀,置冰水浴中放置2 h,迅速滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 空白基质溶液的制备 取空白基质适量,按“2.2.2”项下方法进行制备,即得空白基质溶液。

2.3 专属性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白基质溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。结果表明,空白基质对3种主要成分的测定无干扰,本方法的专属性较好。

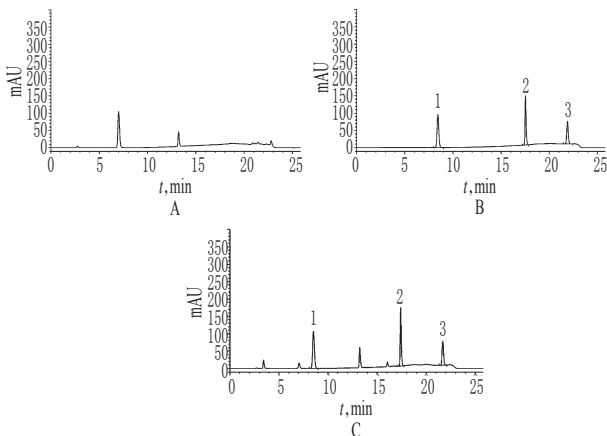


图1 高效液相色谱图

A.空白基质;B.混合对照品;C.供试品;1.氯霉素;2.克霉唑;3.醋酸地塞米松

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank matrix; B. mixed references; C. test sample; 1. chloramphenicol; 2. clotrimazole; 3. dexamethasone

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松混合对照品溶液0.5、0.7、1.0、1.5、2.0 ml于10 ml量瓶中,用甲醇稀释并定容,摇匀,得到5组分别含氯霉素(0.10、0.14、0.20、0.30、0.40 mg/ml)、克霉唑(0.05、0.07、0.10、0.15、0.20 mg/ml)和醋酸地塞米松(0.03、0.04、0.06、0.09、0.12 mg/ml)不同质量浓度的系列混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件注入HPLC仪进样,记录峰面积。以待测成分色谱峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x, mg/ml)为横坐标进行线性回归,回归方程和线性范围详见表1。

表1 回归方程和线性范围

Tab 1 Regression equation and linear range

待测成分	线性范围, mg/ml	回归方程	r
氯霉素	0.10~0.40	$y=6\ 567.9x-23.697$	0.999 8
克霉唑	0.05~0.20	$y=19\ 791x-21.651$	0.999 9
醋酸地塞米松	0.03~0.12	$y=7\ 071.9x+26.26$	0.999 8

2.5 精密度试验

取“2.4”项下经稀释的混合对照品溶液(含氯霉素0.20 mg/ml、克霉唑0.10 mg/ml、醋酸地塞米松0.06 mg/ml)适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,3组分峰面积的RSD分别为0.3%、0.2%、0.4%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取按“2.2.2”项下方法制备的供试品溶液(批号:141009)适量,分别于放置0、2、4、6、8、18、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,氯霉素、克霉唑、醋酸地塞米松峰面积的RSD均小于1%(n=7),表明供试品溶液在24 h内的稳定性较好。

2.7 重复性试验

取同一批号样品(批号:141009)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,氯霉素、克霉唑、醋酸地塞米松峰面积的RSD分别为0.5%、0.7%、1.4%(n=6),表明本方法的重复性良好。

2.8 回收率试验

分别精密称取氯霉素原料药35.6 mg、克霉唑原料药17.6 mg、醋酸地塞米松原料药10.0 mg,置于200 ml量瓶中,精密加入空白基质5.0 g,加甲醇50 ml,按“2.2.2”项下方法制成含检测浓度80%的供试品溶液。分别精密称取氯霉素原料药44.5 mg、克霉唑原料药22.0 mg、醋酸地塞米松原料药12.5 mg,操作步骤同上,制成含检测浓度100%的供试品溶液。分别精密称取氯霉素原料药53.4 mg、克霉唑原料药26.4 mg、醋酸地塞米松原料药15.0 mg,操作步骤同上,制成含检测浓度120%的供试品溶液。以上3个浓度水平各平行制备3份,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算回收率,结果见表2。

表2 回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery tests (n=9)

指标成分	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
氯霉素	35.58	35.82	100.67	99.82	2.8
	35.62	36.30	101.91		
	35.64	36.81	103.28		
	44.48	45.55	102.41		
	44.28	43.83	98.98		
	44.31	43.61	98.42		
	53.38	51.22	95.95		
	54.66	55.38	101.32		
	53.25	50.81	95.42		
克霉唑	17.59	17.76	100.97	100.18	1.8
	17.99	18.05	100.33		
	18.12	18.26	100.77		
	21.99	22.64	102.96		
	21.96	21.86	99.54		
	21.85	21.86	100.05		
	26.39	25.63	97.12		
	27.32	27.78	101.68		
	26.12	25.64	98.16		
醋酸地塞米松	9.98	10.06	100.80	100.15	2.9
	10.02	10.29	102.69		
	10.13	10.33	101.97		
	12.48	12.80	102.56		
	12.23	12.31	100.65		
	12.18	12.29	100.90		
14.97	14.28	95.39			
15.16	15.35	101.25			
14.91	14.18	95.10			

2.9 样品含量测定

取2批样品(批号:141009、141017)各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,并计算3种主要成分的含量。结果,氯霉素含量分别为93.1%

HPLC法同时测定腰痛宁胶囊中甘草酸和甘草次酸的含量

何燕宁^{1,2*}, 赵引利^{1,2}, 杨冬丽^{2,3}, 张东阁^{2,3}, 王春民^{2,3#}(1.承德医学院中药研究所, 河北承德 067000; 2.颈复康药业集团有限公司, 河北承德 067000; 3.河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北承德 067000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4279-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.37

摘要 目的:建立同时测定腰痛宁胶囊中甘草酸和甘草次酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent TC-C₁₈,流动相为甲醇-0.2 mol/L 乙酸铵溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为250 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:甘草酸铵和甘草次酸检测质量浓度线性范围分别为0.007 1~0.178 0 mg/ml、0.354 8~8.720 0 μg/ml(*r*均为0.999 8);精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤1.74%;加样回收率分别为95.49%~100.62%、96.80%~102.26%,RSD分别为1.98%、1.78%(*n*=9)。结论:该方法操作简单、重复性好,测定结果准确、可靠,可用于同时测定腰痛宁胶囊中甘草酸和甘草次酸的含量。

关键词 腰痛宁胶囊;甘草酸;甘草次酸;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Glycyrrhizic Acid and Glycyrrhetic Acid in Yaotongning Capsule by HPLC

HE Yan-ning^{1,2}, ZHAO Yin-li^{1,2}, YANG Dong-li^{2,3}, ZHANG Dong-ge^{2,3}, WANG Chun-min^{2,3}(1.Institute of Traditional Chinese Medicine, Chengde Medical University, Hebei Chengde 067000, China; 2.Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hebei Chengde 067000, China; 3.The New Excipients of Traditional Chinese Medicine Engineering Research Center of Hebei Province, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneously determination of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid in Yaotongning capsule. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent TC-C₁₈ with mobile phase of methanol-0.2 mol/L ammonium acetate (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min; detection wavelength was 250 nm and column temperature was 25 ℃ and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.007 1-0.178 0 mg/ml(*r*=0.999 8) for glycyrrhizin acid and 0.354 8-8.720 0 μg/ml of glycyrrhetic acid(*r*=0.999 8); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.74%, average recoveries were 95.49%-100.62% (RSD=1.98%, *n*=9) and 96.80%-102.26% (RSD=1.83%, *n*=9), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, reproducible, accurate and reliable, and can be used for the simultaneous determination of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid in Yaotongning capsule.

KEYWORDS Yaotongning capsule; Glycyrrhizic acid; Glycyrrhetic acid; HPLC

(*n*=6)、92.0% (*n*=4), 克霉唑含量分别为96.5% (*n*=6)、101.1% (*n*=4), 醋酸地塞米松含量分别为102.1% (*n*=6)、102.7% (*n*=4)。

3 讨论

3.1 方法的耐用性

分别选择不同色谱柱、不同柱温,对氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松的分离度等进行考察。结果表明,不同柱温(30、35 ℃)、不同色谱柱[Thermo Hypersil BDS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Ecosil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Shimadzu VP-ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)]对氯霉素、克霉唑和醋酸地塞米松的分离度影响均不大,测定结果均符合要求,表明本方法的耐用性较好。

3.2 溶剂的选择

本品是复方制剂,处方组分复杂,且含有大量亲水性和亲脂性基质,在供试品溶液制备过程中依据主药和辅料的理化特性选择溶剂。笔者曾尝试过采用30%、50%、70%甲醇溶液

和纯甲醇作为溶剂提取样品,发现甲醇浓度低时容易造成色谱柱堵塞,柱压升高,而纯甲醇大大延长了色谱柱的使用寿命。

综上所述,该方法简便快速、结果准确、重复性好,适用于复方地克软膏及相关制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 吴晓燕,瞿发林,陈颖,等.HPLC法测定茵克软膏中醋酸地塞米松的含量[J].天津药学,2014,26(5):14.
- [2] 严玲.RP-HPLC法测定复方维A酸软膏中醋酸地塞米松的含量[J].中国药房,2007,18(7):540.
- [3] 柳杰,陈艳伟,辛翠群,等.HPLC法同时测定复方克霉唑乳膏中2种成分的含量[J].实用药物与临床,2012,15(7):419.
- [4] 李如标,王梅娟.高效液相色谱法测定复方醋酸地塞米松搽剂中2组分的含量[J].中国新药与临床杂志,2011,30(8):623.
- [5] 黄东萍,王立升.反相高效液相色谱法测定双唑泰栓中甲硝唑、克霉唑和醋酸氯己定的含量[J].药物分析杂志,2002,22(2):129.

(收稿日期:2015-03-12 修回日期:2015-09-16)

(编辑:周 箐)

* 硕士研究生。研究方向:中药药动学。E-mail:18932879618@189.cn

通信作者:主任中药师。研究方向:中药的新技术与新应用。E-mail:13603140779@139.com