

# HPLC法测定痤疮酊中氯霉素和水杨酸的含量

阿不都西克日·阿不都力米提\*, 卡斯木·卡哈尔, 滕亮, 张全梅<sup>#</sup>(新疆医科大学第一附属医院药学部, 乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2557-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.38

**摘要** 目的:建立同时测定痤疮酊中氯霉素和水杨酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Shim-pack CLC-ODS,流动相为甲醇-水(50:50, V/V),流速为0.8 ml/min,检测波长为278 nm,柱温为35 ℃,进样量为10 μl。结果:氯霉素和水杨酸质量浓度分别在2.0~10.0 μg/ml( $r=0.999\ 2$ )、5.0~25.0 μg/ml( $r=0.999\ 1$ )范围内与各自峰面积呈良好的线性关系;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;氯霉素和水杨酸的平均加样回收率分别为99.77%、99.29%,RSD分别为0.35%、0.48%( $n=9$ )。结论:该方法操作简便、快速,结果准确,专属性好、精密度高,可用于痤疮酊的质量控制。

**关键词** 高效液相色谱法;痤疮酊;氯霉素;水杨酸;含量测定

## Content Determination of Chloramphenicol and Salicylic Acid in Acne Tincture by HPLC

Abuduxikeri·Abdulimiti, Kasimu·Kahaer, TENG Liang, ZHANG Quan-mei(Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of chloramphenicol and salicylic acid in Acne tincture. METHODS: HPLC method was adopted with the column of Shim-pack CLC-ODS with the mobile phase of methanol-water (50:50, V/V) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was 278 nm, column temperature was 35 ℃, and the volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 2.0-10.0 μg/ml ( $r=0.999\ 2$ ) for chloramphenicol and 5.0-25.0 μg/ml( $r=0.999\ 1$ ) for salicylic acid; the RSDs of precision, stability and repeatability tests were lower than 1%; the average recoveries chloramphenicol and salicylic acid were respectively 99.77% (RSD=0.35%,  $n=9$ ) and 99.29% (RSD=0.48%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate, specific, precise, and can be used for quality control of Acne tincture.

**KEYWORDS** HPLC; Acne tincture; Chloramphenicol; Salicylic acid; Content determination

痤疮酊为我院自制制剂,主要由水杨酸和氯霉素组成,具有消炎杀菌、溶解角栓的作用,临床主要用于治疗毛囊炎、头皮湿疹、脂溢性皮炎、酒糟鼻等。该药在临床使用过程中疗效较好,未见严重不良反应发生,是一种患者易于接受的外用制剂。

目前,痤疮酊的质量控制方法包括鉴别、检查、总酸量的测定,但没有主要成分氯霉素和水杨酸的含量测定。随着医药科技的发展与临床用药安全性需求的增加,目前的质量控制体系已无法满足要求。因此,笔者尝试采用高相液相色谱(HPLC)法测定痤疮酊中氯霉素和水杨酸的含量,以为完善该制剂的质量标准提供试验基础。

## 1 材料

LC-20AD HPLC仪,包含SPD-20A检测器和LC Solution液相工作站(日本岛津公司);BP211D电子天平(德国Sartorius公司)。

氯霉素对照品、水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130555-201203,批号:100106-201104);痤疮酊(本院制剂室自制,批号:140804、140812、140818、140828、140901、140912);乙醇为分析纯,甲醇为色谱纯,水为纯化水。

\* 药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:0991-4362956。E-mail:994149743@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:0991-4362245。E-mail:1295646510@qq.com

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack CLC-ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(50:50, V/V);流速:0.8 ml/min;检测波长:278 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取0.05 g水杨酸、氯霉素对照品,分别置于100 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液至刻度,摇匀,作为水杨酸、氯霉素对照品贮备液。分别精密量取两种对照品贮备液各1 ml,置于10 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液,稀释至刻度,得到质量浓度均为50 μg/ml的水杨酸和氯霉素对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密吸取本品1 ml,置于1 000 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液稀释至刻度,配制供试品贮备液。精密量取供试品贮备液1 ml,置于100 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液稀释至刻度,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 精密称取0.025 g不含氯霉素和水杨酸的阴性样品,置于100 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液至刻度,摇匀,作为阴性对照贮备液。精密量取1 ml阴性对照贮备液,置于10 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液稀释至刻度,得到质量浓度为25 μg/ml的阴性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

取“2.2”项下对照品、供试品和阴性对照溶液各10 μl,按照

“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果发现,供试品色谱中氯霉素、水杨酸色谱峰与其他色谱峰达到基线分离,氯霉素分离度为7.26,拖尾因子为1.026;水杨酸分离度为2.07,拖尾因子为1.07。其他成分对氯霉素、水杨酸测定无干扰。

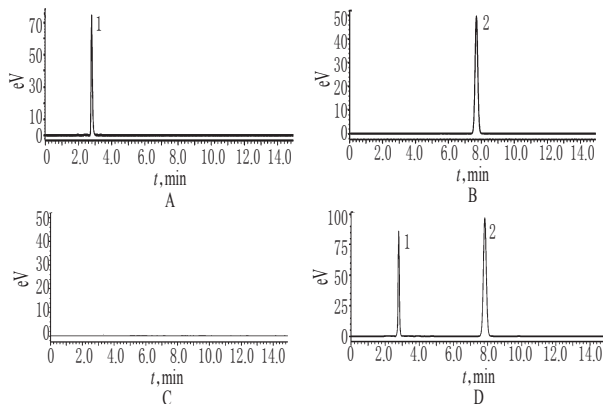


图1 高效液相色谱图

A.水杨酸对照品;B.氯霉素对照品;C.阴性对照;D.供试品;1.水杨酸;2.氯霉素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.salicylic acid control; B.chloramphenicol control; C.negative control; D.test control; 1.salicylic acid; 2.chloramphenicol

#### 2.4 线性关系考察<sup>[1-2]</sup>

精密称取0.05 g水杨酸对照品、0.025 g氯霉素对照品,置于100 ml量瓶中,加50%甲醇溶液至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。分别精密量取1 ml对照品贮备液置于10 ml量瓶中,加50%的甲醇溶液稀释至刻度,得到质量浓度为50 μg/ml的水杨酸对照品溶液和25 μg/ml的氯霉素对照品溶液。精密量取水杨酸对照品溶液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 ml,氯霉素对照品溶液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 ml,分别置于10 ml量瓶中,加50%乙醇溶液稀释至刻度,得到水杨酸质量浓度分别为5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、20.0 μg/ml,氯霉素质量浓度分别为2.5、3.75、5.0、6.5、7.5、10.0 μg/ml的系列溶液。按照“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得氯霉素的回归方程为 $y=23\ 121x+34\ 446$ ( $r=0.999\ 2$ ),水杨酸的回归方程为 $y=9\ 133.2x+40\ 835$ ( $r=0.999\ 1$ )。结果表明,氯霉素和水杨酸质量浓度分别在2.0~10.0、5.0~25.0 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好的线性关系。

#### 2.5 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,氯霉素和水杨酸峰面积的RSD分别为0.10%、0.92%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

#### 2.6 稳定性试验

精密吸取同一份供试品溶液(批号:140804)10 μl,分别于室温下放置0、2、4、6、8、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,氯霉素和水杨酸峰面积的RSD分别为0.12%、0.35%( $n=6$ ),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

#### 2.7 重复性试验

精密吸取本品适量(批号:140804),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,并按“2.1”项下色谱条件分别进样。结

果,氯霉素和水杨酸峰面积的RSD分别为0.07%、0.07%( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

#### 2.8 加样回收率试验

精密吸取已知含量的样品(批号:140818)5 ml,置于1 000 ml量瓶中,加入50%甲醇溶液稀释至刻度,配制供试品贮备液。精密量取供试品贮备液1 ml,共9份,分别置于10 ml量瓶中,每3份精密加入经稀释的两种对照品溶液0.5、1.0、1.5 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果详见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n=9$ )						
待测成分	样品含量, μg/ml	加入量, μg/ml	测得量, μg/ml	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
氯霉素	2.505	1.512	4.021	100.26	99.77	0.35
	2.505	1.512	4.015	99.87		
	2.505	1.512	4.018	100.07		
	2.505	2.520	5.018	99.72		
	2.505	2.520	5.008	99.33		
	2.505	2.520	5.023	99.92		
	2.505	3.528	6.029	99.89		
	2.505	3.528	6.022	99.69		
	2.505	3.528	6.003	99.15		
	2.505	3.528	6.029	99.89		
	2.505	3.528	6.022	99.69		
	2.505	3.528	6.003	99.15		
水杨酸	4.995	3.012	7.989	99.40	99.29	0.48
	4.995	3.012	7.973	98.87		
	4.995	3.012	7.996	99.63		
	4.995	5.020	10.001	99.72		
	4.995	5.020	10.018	100.06		
	4.995	5.020	9.974	99.18		
	4.995	7.028	11.938	98.79		
	4.995	7.028	11.978	99.36		
	4.995	7.028	11.923	98.58		

#### 2.9 样品含量测定

精密量取6批样品适量,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,记录峰面积,并计算含量,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果(μg/ml,  $n=6$ )

Tab 2 Result of content determination of samples (μg/ml,  $n=6$ )

待测成分	批号					
	140804	140812	140818	140828	140901	140912
氯霉素	9.98	10.01	9.91	10.20	10.00	10.13
水杨酸	20.05	19.98	20.16	19.96	19.65	20.10

### 3 讨论

痤疮酞原标准采用滴定法,只测定总酸量,并未进行氯霉素、水杨酸的含量测定,且滴定结果偏低。本试验建立了测定样品中氯霉素和水杨酸含量的HPLC法,所有试验数据均符合方法学要求。

#### 3.1 色谱柱的选择

最常用的色谱柱填充剂为化学键合硅胶<sup>[3-4]</sup>。当需使用pH小于2的流动相时,应选用耐酸的填充剂,由于痤疮酞本身显酸性,故必须要用耐酸的色谱柱才能达到灵敏度、准确率高的测试结果。最终本试验选择Shim-pack CLC-ODS。

#### 3.2 流动相的选择<sup>[5]</sup>

笔者比较了多种流动相系统[甲醇-水-乙腈-冰醋酸(50:40:10:0.1, V/V/V), 甲醇-乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钠(50:4:46, V/V/V), 甲醇-水(25:75, V/V), 甲醇-水-冰醋酸(25:75:0.1,

# 氧氟沙星凝胶微生物限度检查方法研究

毛腾霄<sup>1\*</sup>,熊雯<sup>1</sup>,秦玉花<sup>2#</sup>(1.成都市食品药品检验研究院,成都 610041;2.成都中医药大学基础医学院,成都 610072)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2559-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.39

**摘要** 目的:建立氧氟沙星凝胶的微生物限度检查方法。方法:采用不同浓度的硫酸锰、氯化钙、氯化镁破胶剂制备供试液,采用薄膜过滤法检查细菌数和控制菌,同时采用常规法检查霉菌和酵母菌数。结果:不以破胶剂处理制备供试液,经常规法检查,白色念珠菌和黑曲霉的回收率均>70%;以5%硫酸锰、3%氯化钙、1%氯化镁处理制备的供试液,经薄膜过滤法检查,大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的回收率均>70%;以破胶剂处理制备的供试液,经薄膜过滤法检查,能正常检出控制菌。结论:加入适当浓度的破胶剂能够有效消除氧氟沙星凝胶的抑菌性。所建立的方法适用于该制剂的微生物限度检查。

**关键词** 氧氟沙星凝胶;微生物限度检查;破胶剂;薄膜过滤法

## Research on the Method of Microbial Limit Test for Ofloxacin Gel

MAO Teng-xiao<sup>1</sup>, XIONG Wen<sup>1</sup>, QIN Yu-hua<sup>2</sup>(1.Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610041, China; 2.Basic Medical College, Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method of microbial limit test for Ofloxacin gel. METHODS: Test sample solutions were prepared by MnSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> and MgCl<sub>2</sub> gelout with different concentrations, the numbers of bacteria and control bacteria were detected by membrane filtration method, and the numbers of molds and yeasts were determined by conventional method. RESULTS: The conventional method showed the recoveries of *Candida albicans* and *Aspergillus niger* were more than 70% after treated by gel breaker; the membrane filtration method showed the recoveries of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were more than 70% after treated by 5% MnSO<sub>4</sub>, 3% CaCl<sub>2</sub> and 1% MgCl<sub>2</sub>; the membrane filtration method could detect the control bacteria after treated by gel breaker. CONCLUSIONS: Gel breaker with appropriate concentrations can effectively eliminate the antibacterial activity of Ofloxacin gel. The established method is suitable for its microbial limit test.

**KEYWORDS** Ofloxacin gel; Microbial limit test; Gel breaker; Membrane filtration method

氧氟沙星凝胶为局部外用制剂,对多种细菌有抗菌作用。按2010年版《中国药典》(二部)附录XIJ微生物限度检查方法规定,本品每1g中细菌数不得过100 CFU,霉菌和酵母菌数不得过100 CFU,金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌不得检出。由于本品抑菌性强,故采用薄膜过滤法检查细菌数,但在过滤时,发现供试液会使滤膜堵塞,原因是基质中的卡波姆在稀释液中会形成胶体溶液,导致无法滤过,故应先消除卡波姆

的影响<sup>[1-2]</sup>。本试验利用金属离子与凝胶中的卡波姆结合形成沉淀的原理<sup>[3]</sup>,采用硫酸锰、氯化钙、氯化镁破胶剂制备供试液,考察不同离子浓度对细菌回收率的影响,建立了氧氟沙星凝胶的微生物限度检查方法并进行了方法学验证。

## 1 材料

### 1.1 仪器

SW-CJ-2FD型洁净工作台(苏净集团安泰公司);LRH 250

V/V)和甲醇-2%乙酸(48:52, V/V)]。结果发现,采用甲醇-水(50:50, V/V)为流动相时,峰形好,柱效高,分离度好且配比简单。因此,本试验选择甲醇-水(50:50, V/V)为流动相。

综上所述,本方法操作简单、便捷,结果准确,专属性好,精密度高,可用于痤疮酊的质量控制。

## 参考文献

[1] 解放军总后勤部卫生部.中国人民解放军医疗单位制剂规范[S].1991年版.北京:人民军医出版社,1991:63.

\* 农艺师,硕士。研究方向:药品微生物检验。电话:028-85362197。E-mail:pzh\_maotx@126.com

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:中西医结合基础。电话:028-61800219。E-mail:sinesister0328@163.com

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:776.

[3] 刘照振,王俊秋,李文东.HPLC法测定复方氯霉素洗剂和氯柳啶中氯霉素的含量[J].中国药房,2014,25(20):1910.

[4] 黄海波,欧阳吉德,吴美香.高效液相法测定痤疮搽剂中氯霉素、水杨酸的含量[J].国际医药卫生导报,2010,16(18):28.

[5] 赵梅,阮克宽,谷俊峰.HPLC法测定复方痤疮搽剂中氯霉素和水杨酸的含量[J].中国民族民间医药,2010,19(15):65.

(收稿日期:2015-03-05 修回日期:2015-05-14)

(编辑:申琳琳)