

RP-HPLC法测定复方甲硝唑涂剂中甲硝唑和醋酸泼尼松的含量

徐莲琴*,王玉华,郑 亿,程晓慧(大庆油田总医院,黑龙江大庆 163001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)13-1218-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.13.23

摘要 目的:建立同时测定复方甲硝唑涂剂中甲硝唑和醋酸泼尼松含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-水,梯度洗脱,流速为1.0 ml/min,检测波长为238 nm,柱温为20 ℃。结果:甲硝唑和醋酸泼尼松检测质量浓度线性范围分别为100.0~800.0($r=0.9997$)、20.0~200.0($r=0.9998$) μg/ml,平均回收率分别为101.3%(RSD=1.6%, $n=6$)、100.3%(RSD=1.8%, $n=6$)。结论:本方法准确度、精密度好,可用于含甲硝唑、醋酸泼尼松的复方制剂的质量控制。

关键词 反相高效液相色谱法;复方甲硝唑涂剂;醋酸泼尼松;含量测定

Content Determination of Metronidazole and Prednisone Acetate in Compound Metronidazole Pigmentum by RP-HPLC

XU Lian-qin, WANG Yu-hua, ZHENG Yi, CHENG Xiao-hui (Daqing Oilfield General Hospital, Heilongjiang Daqing 163001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop the method for simultaneous determination of metronidazole and prednisone acetate in Compound metronidazole pigmentum. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 238 nm and column temperature was 20 ℃. RESULTS: The linear ranges of metronidazole and prednisone acetate were 100.0-800.0 μg/ml ($r=0.9997$) and 20.0-200.0 μg/ml ($r=0.9998$), respectively; the average recoveries were 101.3% (RSD=1.6%, $n=6$) and 100.3% (RSD=1.8%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is good in accuracy and precision, and it is suitable for quality control of compound preparation containing metronidazole and prednisone acetate.

KEY WORDS RP-HPLC; Compound metronidazole pigmentum; Prednisone acetate; Content determination

复方甲硝唑涂剂是我院自制制剂,由甲硝唑、醋酸泼尼松组成,具有消炎、止痛作用,用于口腔溃疡。其中甲硝唑含量为0.5%,醋酸泼尼松含量为0.15%。有关甲硝唑和醋酸泼尼松含量测定的文献^[1-3]很多,但尚未见同时测定甲硝唑和醋酸泼尼松2种成分的文献报道。为此,笔者建立了可同时测定复方甲硝唑涂剂中2种成分含量的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法,结果表明本方法准确度、精密度好,可用于含甲硝唑、醋酸泼尼松的复方制剂的质量控制。

1 材料

1100系列HPLC仪(美国Agilent公司);AG204电子分析天平(瑞士Mettler-toledo公司)。

复方甲硝唑涂剂(自制,批号:101027、101208、110405,规格:每瓶10 ml);甲硝唑对照品(批号:100191-200305,纯度:99.8%)、醋酸泼尼松对照品(批号:100012-200706,纯度:99.2%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品贮备液。精密称取甲硝唑对照品50 mg,置于25 ml量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,制成2 mg/ml的甲硝唑贮备液;精密称取醋酸泼尼松对照品50 mg,置于25 ml量

瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,制成2 mg/ml的醋酸泼尼松贮备液。

2.1.2 供试品溶液。精密量取复方甲硝唑涂剂2.0 ml,置于25 ml量瓶中,用甲醇溶解并超声15 min,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以0.45 μm滤膜过滤,即得。

2.1.3 阴性样品溶液。按处方比例及制备工艺制得不含甲硝唑和醋酸泼尼松的阴性对照样品,按“2.1.2”项下方法制得阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水,梯度洗脱[0~5 min,甲醇-水(35:65);5~15 min,甲醇-水(65:35)],流速:1.0 ml/min;柱温:20 ℃;进样量:10 μl;检测波长:238 nm。在选定条件下,甲硝唑和醋酸泼尼松与样品中其他组分色谱峰可实现基线分离,且阴性样品在甲硝唑和醋酸泼尼松出峰处无干扰,理论板数以甲硝唑和醋酸泼尼松计均大于2 000。甲硝唑和醋酸泼尼松对照品及供试品、阴性样品色谱见图1。

2.3 线性关系考察

分别精密量取0.5、1、2、3、4 ml甲硝唑贮备液和0.1、0.2、0.4、0.6、1.0 ml醋酸泼尼松贮备液置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释,定容,摇匀,制成系列标准液。在上述色谱条件下,精密吸取系列标准液10 μl进样,以甲硝唑和醋酸泼尼松的峰面积(A)对其质量浓度(c)进行线性回归,得甲硝唑回归方程为 $A=$

* 副主任药师。研究方向:药品检验。电话:0459-5804112。E-mail:xulianqin@163.com

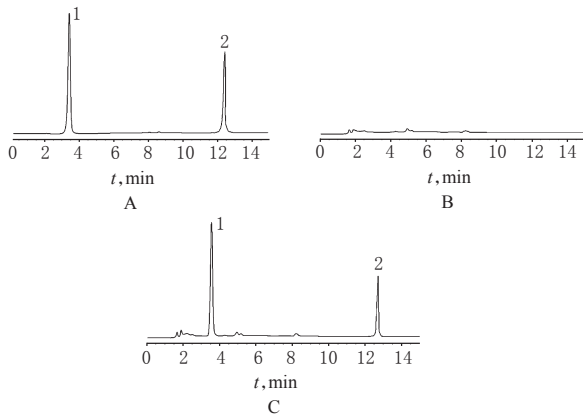


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 阴性样品; C. 供试品; 1. 甲硝唑; 2. 醋酸泼尼松

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substances control; B. negative samples; C. test samples; 1. metronidazole; 2. prednisone acetate

11 230c+170 159 ($r=0.9997, n=5$), 检测质量浓度线性范围为 100.0~800.0 $\mu\text{g/ml}$; 醋酸泼尼松回归方程为 $A=23260c+102381$ ($r=0.9998, n=5$), 检测质量浓度线性范围为 20.0~200.0 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4 稳定性试验

取供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、24、48 h 进样 10 μl 测定峰面积。结果甲硝唑和醋酸泼尼松峰面积的 RSD 分别为 1.4%、0.8%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品贮备液 10 μl , 连续进样 5 次, 测定峰面积。结果甲硝唑和醋酸泼尼松峰面积的 RSD ($n=5$) 分别为 1.8%、1.1%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取同一批复方甲硝唑涂剂(批号: 101208), 按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 分别进样测定。结果样品中甲硝唑和醋酸泼尼松含量平均值 ($n=6$) 分别为 0.512%、0.146%, RSD 分别为 1.2%、1.7%, 表明本方法重复性良好。

2.7 回收率试验

精密量取阴性样品溶液 2.0 ml, 置于 25 ml 量瓶中, 分别精密加入甲硝唑贮备液 4、5、6 ml, 醋酸泼尼松贮备液 1.2、1.5、1.8 ml (相当于标示量的 80%、100%、120%), 用甲醇溶解并超声 15 min, 加甲醇稀释至刻度, 按“2.1.2”项下方法制备溶液并进样测定, 计算回收率。结果, 甲硝唑和醋酸泼尼松平均回收率分别为 101.3% (RSD=1.6%)、100.3% (RSD=1.8%), 详见表 1。

2.8 样品含量测定

取 3 批复方甲硝唑涂剂, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 进样, 测定, 结果见表 2。

3 讨论

本制剂在我院已使用十多年, 主要用于治疗口腔溃疡。口腔溃疡好发于唇、颊、舌缘等, 临床治疗主要以局部治疗为主。甲硝唑具有广谱抗厌氧菌作用, 广泛应用于预防和治疗口腔厌氧菌感染。本制剂处方中所含醋酸泼尼松是一种糖皮质激素类药物, 具有较强的抗炎作用, 其局部用药还可改善局

表 1 回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=6$)

组分	加入量, $\mu\text{g/ml}$	测得量, $\mu\text{g/ml}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
甲硝唑	325.9	331.1	101.6	101.3	1.6
	325.9	328.9	100.9		
	407.4	413.9	101.6		
	407.4	410.6	100.8		
	488.9	495.2	101.3		
	488.9	495.7	101.4		
醋酸泼尼松	97.7	97.9	100.2	100.3	1.8
	97.7	97.6	99.9		
	122.2	123.0	100.7		
	122.2	121.9	99.8		
	146.6	147.6	100.7		
	146.6	147.0	100.3		

表 2 3 批样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Content determination results of 3 batches of samples ($n=3$)

批号	甲硝唑占标示量百分含量, %	醋酸泼尼松占标示量百分含量, %
101027	100.8	100.3
101208	102.4	97.3
110405	101.8	101.0

部红、肿、热、痛症状。2 种主药在外用药的使用方法上并无配伍禁忌。

本制剂中主要测定甲硝唑和醋酸泼尼松的含量, 因此对这 2 种成分进行紫外扫描。结果甲硝唑在 277 nm 波长处有最大吸收, 醋酸泼尼松在 238 nm 波长处有最大吸收。因处方中 2 种成分含量相差较大, 且醋酸泼尼松含量更低, 为了提高检测灵敏度, 因此采用了 238 nm 为检测波长, 在此波长处甲硝唑吸收良好。

《中国药典》^[1]测定醋酸泼尼松含量的色谱条件中采用的流动相是乙腈和水, 但经过多次试验, 流动相中加入乙腈会使甲硝唑峰拖尾; 而采用甲醇和水, 可使 2 种成分的峰形对称, 故本试验流动相采用甲醇与水。

由于样品色谱图中峰较多, 分离度要求高, 故对流动相配比进行了考察。经多次摸索发现, 流动相在 5 min 前采用梯度洗脱 (0~5 min, 甲醇 35%) 可得甲硝唑单峰, 5 min 后采用梯度洗脱 (5~15 min, 甲醇 65%) 可获得有理想分离度的醋酸泼尼松单峰。所以最终采纳此洗脱方法。

综上所述, 本测定方法简便快捷、结果准确, 可用于该制剂的含量测定。

参考文献

- [1] 段早红, 欧阳吉德. 复方甲硝唑乳膏的制备及质量控制[J]. 中国药房, 2007, 18(13): 1005.
- [2] 赵爱萍, 魏晓慧. HPLC 法测定醋酸泼尼松片含量均匀度[J]. 中国药师, 2009, 12(4): 531.
- [3] 董敬远, 程振宇, 陈淑蕙, 等. 醋酸泼尼松片含量测定的 2 种方法比较[J]. 中国药业, 2006, 15(10): 24.
- [4] 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: 1124.

(收稿日期: 2012-04-25 修回日期: 2012-06-04)