

HPLC法测定不同厂家联苯苄唑凝胶的含量

钱燕媚^{1*}, 伍名兰², 郑 婕¹(1.广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 2.广州白云山天心制药股份有限公司, 广州 510300)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2117-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.34

摘要 目的:考察不同厂家联苯苄唑凝胶的质量。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamondsil C₁₈,流动相为甲醇-水-四氢呋喃(75:24:1, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为254 nm,柱温为23 ℃,进样量为10 μl。结果:联苯苄唑检测质量浓度线性范围为50~600 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率为97.71%~101.68%,RSD=1.16%($n=9$)。三厂家生产的联苯苄唑凝胶样品含量均达10 mg/g以上,其差异不大。结论:该方法简便、准确、分离度和重复性好,适用于联苯苄唑凝胶的含量测定。所考察的不同厂家产品含量均符合相关标准的要求。

关键词 联苯苄唑凝胶;高效液相色谱法;含量测定;市售产品;质量

Content Determination of Bifonazole Gel from Different Manufacturers by HPLC

QIAN Yanmei¹, WU Minglan², ZHENG Jie¹(1.The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2.Guangzhou Baiyunshan Tianxin Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the quality of Bifonazole Gel from different manufacturers. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamondsil C₁₈ with mobile phase of methanol - water - tetrahydrofuran (75:24:1, V/V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 254 nm, column temperature was 23 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of bifonazole was 50-600 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 97.71%-101.68% (RSD=1.16%, $n=9$). The contents of Bifonazole gel samples from 3 manufacturers were more than 10 mg/g, with little difference. CONCLUSIONS: The method is simple and accurate with good separation and reproducibility, and suitable for the content determination of Bifonazole gel. The investigated contents of products from different manufactures conform to relevant standards.

KEYWORDS Bifonazole gel; HPLC; Content determination; Commercially available products; Quality

凝胶剂是近年来兴起的一种药物新剂型^[1],它是利用一些新型的高分子药用辅料如卡波姆、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇(PVA)等将药物制成均一、混悬或乳剂型的乳胶稠厚液体或半固体制剂,从而达到提高药物局部浓度、延长药物的释放或扩散过程的目的,具有生物利用度高、稳定性好,不良反应少等优点^[2]。

联苯苄唑(Bifonazole)为咪唑类抗真菌药物,其抗真菌机制为双重抑制真菌细胞膜麦角固醇合成,除与其他咪唑类药物一样作用于细胞色素P₄₅₀依赖性的14 α -去甲基化酶外,还作用于羟甲基麸氨酸辅酶A还原酶,主要用于治疗各种皮肤真菌病如体癣、手足癣、股癣、花斑癣等^[3],临床常制成乳膏剂、凝胶剂、搽剂、栓剂等剂型使用。而联苯苄唑凝胶与其乳膏剂相比,不但有良好的成型性和韧性,且制作简单、稳定性良好,不会出现破乳、酸败等现象,具有更好的开发和应用前景。本试验采用高效液相色谱(HPLC)法测定了联苯苄唑凝胶的含量,以此对三厂家生产的市售产品进行质量考察。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型HPLC仪,包括SIL-20A自动进样器、LC-Solution工作站、SPD-M20A紫外可见检测器(日本岛津公司);BT25S型十万分之一电子天平、BS110S型万分之一电子天平

* 主管药师。研究方向:药品检验。电话:020-36591912。
E-mail:364187610@qq.com

(北京赛多利斯天平有限公司);CH-10BM型超声波清洗机(苏州创惠电子有限公司);DZKW-S-6型恒温水浴锅(北京永光明医疗仪器厂);RE-52型旋转蒸发仪(上海安亭实验仪器有限公司);SH系列电热鼓风干燥箱(广州市上杭仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

联苯苄唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100191-201105,纯度:99.9%);联苯苄唑凝胶(重庆华邦制药有限公司,批号:2013010;内蒙古大唐药业有限公司,批号:20120602;山西安特生物制药股份有限公司,批号:20120201,规格:1%);甲醇、四氢呋喃为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Diamondsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-四氢呋喃(75:24:1, V/V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:254 nm;柱温:23 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,各相邻成分峰的分高度>1.5,理论板数按联苯苄唑峰计不少于2 000。色谱见图1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取经P₂O₅减压干燥24 h的联苯苄唑对照品25 mg,置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得质量浓度为1 mg/ml的对照品贮备液。精密吸取上述对照品贮备液2 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释并定容,摇

匀,即得质量浓度为200 μg/ml的对照品溶液。

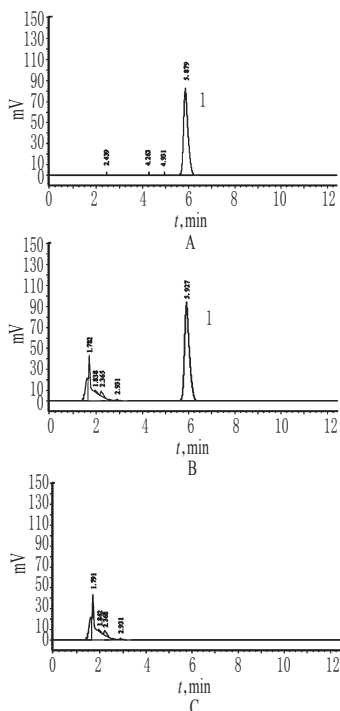


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 联苯苄唑

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. bifonazole

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品0.5 g,置于50 ml具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,称定质量,超声(功率:250 W,频率:40 kHz,下同)处理20 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按联苯苄唑凝胶处方比例及制备工艺制备不含联苯苄唑的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品贮备液0.5、1、2、4、6 ml,各置于10 ml量瓶中,精密加入甲醇定容,摇匀,制成不同质量浓度的系列对照品溶液。分别精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以联苯苄唑质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=793.11x+414.76$ ($r=0.9999$)。结果表明,联苯苄唑检测质量浓度线性范围为50~600 μg/ml。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下质量浓度为200 μg/ml的对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,联苯苄唑峰面积的RSD=0.76%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一批样品(批号:2013010)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,于室温下放置0、4、8、12、24 h时分别精密吸取10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,联苯苄唑峰面积的RSD=0.93%($n=5$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取同一批样品(批号:2013010)0.5 g,精密称定,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算含量。结果,联苯苄唑的平均含量为10.004 mg/g, RSD=0.82%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取同一批样品(批号:2013010)0.25 g,精密称定,共9份,分别精密加入质量浓度为200、250、300 μg/ml的联苯苄唑对照品溶液10 ml(每种质量浓度各3份),挥干溶剂,精密加入甲醇25 ml,称定质量,超声处理1 h,取出,放冷后再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,分别精密吸取续滤液10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
0.249 6	2.497 1	2.000 0	4.515 7	100.93		
0.250 3	2.504 1	2.000 0	4.537 7	101.68		
0.250 5	2.506 1	2.000 0	4.460 3	97.71		
0.250 3	2.504 1	2.500 0	5.041 8	101.51		
0.250 4	2.505 1	2.500 0	5.032 5	101.10	100.73	1.16
0.250 5	2.506 1	2.500 0	5.023 1	100.68		
0.250 1	2.502 1	3.000 0	5.529 2	100.90		
0.249 9	2.500 1	3.000 0	5.527 0	100.90		
0.250 7	2.508 1	3.000 0	5.543 1	101.17		

2.8 样品含量测定

取三厂家的联苯苄唑凝胶样品各0.5 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取上述供试品溶液和按“2.2.1”项下方法制备的对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算联苯苄唑含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=3$)

厂家	样品批号	联苯苄唑含量/mg/g	RSD/%
重庆华邦制药有限公司	2013010	10.004	0.82
内蒙古大唐药业有限公司	20120602	10.021	1.51
西安特生物制药股份有限公司	20120201	10.013	1.84

3 讨论

随着纳米结构脂质载体(NCL)的出现和完善^[4-5],凝胶剂的研究也进入了飞速发展的时期,纳米结构脂质载体温敏原位凝胶^[6]、pH双响应性聚氨基酸纳米凝胶^[7]、环境响应型肝靶向给药纳米凝胶等新凝胶剂型相继出现^[8],使凝胶剂成为了当前最有发展前景的制剂之一。

2015年版《中国药典》上分别收录了联苯苄唑、联苯苄唑乳膏、联苯苄唑溶液、联苯苄唑栓的含量检测方法,但尚未收录联苯苄唑凝胶的含量检测方法,此方面研究相对滞后。目前,联苯苄唑类制剂含量测定主要采取阴离子表面活性剂滴定法和HPLC法^[9]。张天虹等^[10]和吴兵兵^[11]、江生等^[12]先后研究和建立了联苯苄唑凝胶的HPLC检测方法,但在流动相的选择和柱温等方面存在一定的差异,仍可进一步优化。

笔者通过预试验,在参考前人研究的基础上,考察了不同组合和不同比例的流动相的检测效果,发现流动相比例为甲醇-水-四氢呋喃(75:24:1, V/V/V)的效果最佳,峰形对称,分离度好,试验重复性佳。因此,笔者最终选择了该比例的流动相相对市售的三厂家联苯苄唑凝胶的含量进行了测定。结果显示,目前市售的三厂家联苯苄唑凝胶含量均符合国家《新药转正标准》(第65册)的相关要求。

HPLC法同时测定复方麝香草酚溶液中3种有效成分的含量

陈伟*,杨珺,杨谨成,周海燕,王宇,李国辉[#](中国医学科学院肿瘤医院药剂科,北京 100021)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2119-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.35

摘要 目的:建立同时测定复方麝香草酚溶液中苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Thermo Hypersil BDS C₁₈,流动相为乙腈-水-冰醋酸(40:60:0.02, V/V/V),流速为1 ml/min,检测波长为275 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚检测质量浓度线性范围分别为0.045 2~0.903 0、0.049 2~0.984 4、0.046 4~0.927 0 mg/ml($r=0.999 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为98.40%~108.88%、98.21%~104.07%、96.83%~107.09%,RSD分别为3.26%、1.87%、3.33%($n=9$)。结论:该方法简便、准确、特异性好,可用于同时准确测定复方麝香草酚溶液中苯甲酸、水杨酸甲酯、麝香草酚的含量。

关键词 苯甲酸;水杨酸甲酯;麝香草酚;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of 3 Effective Ingredients in Compound Thymol Solution by HPLC

CHEN Wei, YANG Jun, YANG Jincheng, ZHOU Haiyan, WANG Yu, LI Guohui(Dept. of Pharmacy, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of benzoic acid, methyl salicylate and thymol in Compound thymol solution. METHODS: HPLC was performed on the column of Thermo Hypersil BDS C₁₈ with the mobile phase of acetonitrile-water-acetic acid (40:60:0.02, V/V/V) at a flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was 275 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.045 2-0.9030 mg/ml for benzoic acid, 0.0492-0.9844 mg/ml for methyl salicylate and 0.046 4-0.927 0 mg/ml for thymol; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 98.40%-108.88% (RSD=3.26%, $n=9$), 98.21%-104.07% (RSD=1.87%, $n=9$) and 96.83-107.09% (RSD=3.33%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and specific, and accurately determine the contents of benzoic acid, methyl salicylate and thymol in Compound thymol solution.

KEYWORDS Benzoic acid; Methyl salicylate; Thymol; HPLC; Content determination

复方麝香草酚溶液是我院特色制剂,临床上用于妇科阴道冲洗,具有很强的杀菌作用,因其疗效显著,受到妇科医师和患者的普遍认可。但是,复方麝香草酚溶液是我院20世纪

70年代研发的特色制剂,其含量分析仍采用滴定方法,且仅测定了复方制剂中的一种活性成分的含量,质量控制方法相对落后。其他成分则主要依赖定性鉴别,没有含量测定方法。

参考文献

- [1] 王朝,黄绳武.凝胶剂研究进展[J].医药导报,2010,29(2):223.
- [2] 梁斌,朱丹燕.新型凝胶剂研究进展[J].海峡药学,2012(3):13.
- [3] 卢秋桃,苏玉珠,陈伟兰.联苯苄唑的临床应用与不良反应研究进展[J].中国实用医药,2011,6(28):253.
- [4] 陈晶,顾月清.纳米结构脂质载药系统的研究进展[J].药学进展,2010,34(12):535.
- [5] Zhang T, Chen J, Zhang Y, et al. Characterization and evaluation of nanostructured lipid carrier as a vehicle for oral delivery of etoposide[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(3):174.
- [6] 程树仓.姜黄素纳米脂质载体温敏原位凝胶剂的研制[D].济南:山东大学,2013.
- [7] 石丰华.还原和pH双响应性聚氨基酸纳米凝胶的制备及其作为抗肿瘤药物载体的应用[D].长春:东北师范大学,2013.
- [8] 段存贤.环境响应型肝靶向纳米凝胶给药系统研究[D].济南:山东大学,2012.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1 262-1 263.
- [10] 张天虹,徐文,崔升森,等.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶中联苯苄唑的含量[J].实用药物与临床,2003,6(4):174.
- [11] 吴兵兵.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶的含量[J].医药导报,2006,25(6):575.
- [12] 江生,张晓松.高效液相色谱法测定联苯苄唑凝胶的含量[J].中国药业,2005,14(5):34.

*主管药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:010-87788577。
E-mail: sorros900@126.com

#通信作者:主任药师,教授。研究方向:医院药事管理。电话:
010-67714970。E-mail: lgh0603@126.com

(收稿日期:2015-06-10 修回日期:2016-04-12)

(编辑:周 箭)