

HPLC法同时测定复方奥硝唑贴膜中奥硝唑和地塞米松磷酸钠的含量^Δ

李为^{1*}, 雷凯², 张程亮², 贺雯茜², 刘东², 陈鹰^{1#} (1.广州军区武汉总医院药剂科, 武汉 430070; 2.华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2975-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.30

摘要 目的:建立同时测定复方奥硝唑贴膜中奥硝唑和地塞米松磷酸钠含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil ODS-3,流动相为甲醇-20 mmol/L磷酸盐缓冲液(用冰乙酸调pH至7.40)(55:45, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30℃,检测波长为242 nm,进样量为10 μl。结果:奥硝唑、地塞米松磷酸钠检测质量浓度线性范围均为1~100 μg/ml($r=0.9997$ 、 0.9999);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为96.50%~99.80%、96.50%~99.60%,RSD分别为1.02%、0.99%($n=9$)。结论:该方法专属性强、精密性和稳定性好、准确度高,可同时测定复方奥硝唑贴膜中奥硝唑和地塞米松磷酸钠的含量。

关键词 复方奥硝唑贴膜;奥硝唑;地塞米松磷酸钠;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Ornidazole and Dexamethasone Sodium Phosphate in Compound Ornidazole Film by HPLC

LI Wei¹, LEI Kai², ZHANG Chengliang², HE Wenxi², LIU Dong², CHEN Ying¹ (1.Dept. of Pharmacy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command, Wuhan 430070, China; 2.Dept. of Pharmacy, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of ornidazole and dexamethasone sodium phosphate in Compound ornidazole film. METHODS: HPLC was performed on the column of Inertsil ODS-3 with mobile phase of methanol-20 mmol/L phosphate buffer (pH was adjusted to 7.40 with glacial acetic acid)(55:45, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, column temperature was 30℃, detection wavelength was 242 nm and volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear range were 1-100 μg/ml for both ornidazole ($r=0.9997$) and dexamethasone sodium phosphate ($r=0.9999$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 96.50%-99.80% (RSD=1.02%, $n=9$) and 96.50%-99.60% (RSD=0.99%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is specific with good precision and stability and high accuracy, and can be used for the simultaneous determination of ornidazole and dexamethasone sodium phosphate in Compound ornidazole film.

KEYWORDS Compound ornidazole film; Ornidazole; Dexamethasone sodium phosphate; HPLC

口腔微环境是一个潮湿且易受到细菌感染的环境,同时伴随着唾液的连续分泌,传统治疗药物极易受到唾液的侵蚀,导致局部浓度低、疗效差。而口腔贴膜剂是一类采用天然或

者合成的具有黏附性的高分子聚合物制备的透明或者半透明的薄膜状固体制剂,用于口腔给药具有保护创面、提高局部有效浓度、延长药物滞留时间的优势。奥硝唑作为新一代的硝

- [6] 林琛,袁永兵,张兰珍,等.不同产地叶下珠中4种酚酸类成分的测定[J].中草药,2012,43(10):2055.
- [7] 陈一燕,陈崇宏.柯里拉京药理活性研究进展[J].中国现代应用药学,2010,27(5):390.
- [8] 周一萌,周斌.马来酸桂哌齐特及有关物质的HPLC法测定[J].中国医药工业杂志,2015,46(9):1010.
- [9] 孙佳,郑林,王爱民,等.超高效液相色谱法测定贵州产灯盏细辛中的6种成分[J].中国医药工业杂志,2013,44(7):673.

- [10] 王洪成,尹海波,曹波,等.HPLC同时测定不同产地野老鹳草中5种活性成分含量[J].辽宁中医杂志,2015,42(4):834.
- [11] 李志浩,瞿京红,郑芳.RP-HPLC测定祛风止痛片中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(10):187.
- [12] 许敏,陈颖,段素敏,等.HPLC法测定3种老鹳草药材中没食子酸和柯里拉京的含量[J].中国野生植物资源,2013,32(6):39.
- [13] 金欣,王锋,姚岚,等.HPLC测定野老鹳草中没食子酸和鞣花酸的总量[J].中成药,2010,32(7):1172.
- [14] 周庆颂,孙若飞,李笑然,等.不同产地老鹳草中有效成分的测定[J].华西药理学杂志,2015,30(4):465.

Δ 基金项目:中央高校基本科研业务费资助项目(No.HUST:2015LC049)

* 药师,硕士。研究方向:药物制剂新剂型与新技术。电话:027-83663643。E-mail:isliwei_tiao@163.com

通信作者:副主任药师,博士。研究方向:药物制剂新剂型与新技术。电话:027-87649309。E-mail:cy9262005@aliyun.com

(收稿日期:2015-11-09 修回日期:2016-04-07)

(编辑:刘柳)

基咪唑类抗厌氧菌药,具有抗菌活性高、组织渗透性好、半衰期长等特点,常用于口腔溃疡的治疗,能有效防治口腔内细菌对口腔溃疡创面的感染^[1]。地塞米松磷酸钠作为糖皮质激素具有抗炎和免疫抑制作用^[2],一方面能减轻创面受到的物理化学刺激;另一方面能够减轻炎症早期的毛细血管扩张、渗出、水肿以及炎性细胞的浸润、吞噬等反应。将二者配伍制备成口腔贴膜剂,不仅能发挥二者的优势,而且能够延长药物对溃疡创面的作用时间,提高疗效。

已有文献报道^[3-6]使用奥硝唑和地塞米松磷酸钠配伍制备口腔贴膜剂,但其质量控制都只针对奥硝唑,未见同时测定奥硝唑和地塞米松磷酸钠含量的报道,而地塞米松磷酸钠作为该类制剂中的主要成分之一也很有必要对其质量进行控制。因此,笔者建立了以高效液相色谱法(HPLC)同时测定自制的复方奥硝唑贴膜中奥硝唑和地塞米松磷酸钠含量的方法,旨在为后期复方奥硝唑贴膜产品的研制与开发奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

LC-16 高效液相色谱仪,包括 LC-16 四元低压梯度泵、SPD-16 双波长紫外检测器、LGC-1025M 柱温箱、SIL-16 自动进样器(日本岛津公司);MS105DU 型十万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 药品与试剂

奥硝唑、地塞米松磷酸钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100608-201102、100077-200805,纯度均>98%);复方奥硝唑贴膜(由华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部制备,批号:150304、150306、150310,规格:每片含奥硝唑 3 mg、地塞米松磷酸钠 0.875 mg);乙基纤维素(泰安瑞泰纤维素有限公司,批号:140524);羟丙甲纤维素(上海卡乐康包衣技术有限公司,批号:140610);壳聚糖(南通兴城生物制品厂,批号:140702);聚乙烯醇(PVA 217,日本可乐丽公司,批号:120420);甲醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、冰乙酸为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司),水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Intersil ODS-3 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-20 mmol/L 磷酸盐缓冲液(用冰乙酸调 pH 至 7.40) (55:45, V/V); 检测波长: 242 nm; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。在该色谱条件下,供试品中两种成分保留时间与奥硝唑和地塞米松磷酸钠的对照品色谱保留时间一致,且二者分离良好,互无干扰(奥硝唑峰保留时间为 3.2 min,地塞米松磷酸钠峰保留时间为 4.9 min)。色谱见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取奥硝唑、地塞米松磷酸钠对照品各 1.0 mg,置于同一 10 ml 量瓶中,用水溶解并定容,得奥硝唑、地塞米松磷酸钠质量浓度均为 100 μg/ml 的混合

对照品溶液。

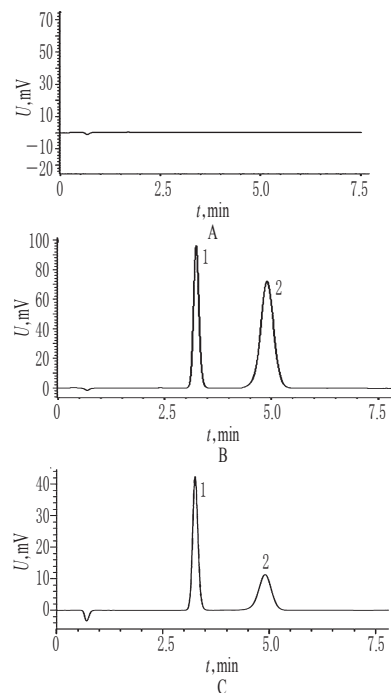


图1 高效液相色谱图

A.阴性对照;B.混合对照品;C.供试品;1.奥硝唑;2.地塞米松磷酸钠

Fig 1 HPLC chromatograms

A.negative control; B.mixed control; C.test sample; 1.ornidazole; 2. dexamethasone sodium phosphate

2.2.2 供试品溶液 取样品1片(1 cm²),剪碎,置于10 ml锥形瓶中,加适量水溶解,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取滤液,用流动相定容于10 ml量瓶中,然后用纯水稀释5倍,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品处方取空白基质膜1片(1 cm²),并按“2.2.2”项下制备方法操作,即得阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,采用倍比稀释,制成系列对照品混合溶液,质量浓度分别均为100、75、50、25、10、5、2.5和1 μg/ml。精密吸取上述系列混合对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各成分质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得到奥硝唑、地塞米松磷酸钠回归方程分别为 $y=9\ 829.96x-2\ 557.89$ ($r=0.999\ 7$)、 $y=19\ 197.2x-2\ 444.94$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,奥硝唑、地塞米松磷酸钠检测质量浓度线性范围均为1~100 μg/ml。

2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下3个质量浓度(2.5、10、100 μg/ml)的混合对照品溶液适量,分别按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,奥硝唑、地塞米松磷酸钠峰面积的RSD分别为0.74%、0.95%、0.37%和0.44%、0.56%、0.82%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取按“2.2.2”项下方法制备的供试品溶液(批号:150304)

适量,分别于室温下放置0.5、1、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,奥硝唑、地塞米松磷酸钠峰面积的RSD分别为0.76%、0.23% ($n=7$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内基本稳定。

2.6 重复性试验

取同一批号样品(批号:150304)共6片(每片1 cm²),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,记录峰面积并按外标法计算各成分含量。结果,奥硝唑、地塞米松磷酸钠平均含量分别为2.980、0.873 mg/片, RSD分别为1.04%、0.47% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

分别精密称取奥硝唑、地塞米松磷酸钠对照品各0.25 mg,置于同一10 ml量瓶中,用水溶解并定容,作为对照品贮备液。分别取样品(批号:150304)适量,共9份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,然后与上述贮备液按(4:6、5:5、6:4)配制溶液(每种比例3份),混匀,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

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

待测成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
奥硝唑	24.12	10.00	33.92	98.00	98.07	1.02
	23.68	10.00	33.33	96.50		
	23.57	10.00	33.55	99.80		
	29.46	12.50	41.66	97.60		
	29.60	12.50	41.77	97.36		
	30.15	12.50	42.33	97.44		
	36.18	15.00	50.99	98.73		
	35.35	15.00	50.22	99.13		
	35.52	15.00	50.23	98.07		
地塞米松磷酸钠	6.94	10.00	16.59	96.50	98.05	0.99
	6.99	10.00	16.84	98.50		
	7.08	10.00	16.76	96.80		
	8.68	12.50	20.89	97.68		
	8.74	12.50	21.19	99.60		
	8.85	12.50	21.19	98.72		
	10.62	15.00	25.28	97.73		
	10.48	15.00	25.25	98.47		
	10.42	15.00	25.19	98.47		

2.8 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,平行操作3分,分别吸取10 μl 按“2.1”项下色谱条件进样,测定各成分峰面积并按外标法计算两种成分的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$, mg/片)

Tab 2 Results of content determination of samples ($n=3$, mg/tablet)

批号	奥硝唑	地塞米松磷酸钠
150304	3.015	0.874
150306	3.073	0.866
150310	2.992	0.887

3 讨论

本研究前期对检测波长进行了优化,通过对地塞米松磷酸钠和奥硝唑进行紫外吸收光谱扫描发现,地塞米松磷酸钠在242 nm波长处吸收值最大,奥硝唑在315 nm波长处吸收值最大,同时在242 nm处也有较强吸收且较平滑。因此,本试验选用242 nm作为测定波长,结果显示两化合物在该波长处均具有较高的灵敏度。

前期研究发现,相对于奥硝唑,地塞米松磷酸钠色谱行为更易受液相色谱条件影响,所以本研究重点摸索地塞米松磷酸钠的液相色谱条件。首先考察了甲醇-水、甲醇-磷酸流动相体系,结果显示不管如何调整水相比例和磷酸浓度,地塞米松磷酸钠峰形均较差;接着尝试了甲醇-磷酸盐缓冲液流动相体系,发现此时地塞米松磷酸钠峰形良好,且随着磷酸盐缓冲液pH值降低,其出峰时间会延后。所以,最终选择甲醇-20 mmol/L磷酸盐缓冲液(用冰乙酸调节pH至7.40)(55:45, V/V)作为本试验的流动相。

口腔贴膜剂作为一种新型热门剂型,《中国药典》2015年版对其剂型评价只作了简单的概述^[7]。Nair AB等^[8]提出,在口腔贴膜剂的开发阶段,常规的药物体外释放和渗透性实验已经被认为是两种有效的剂型评价方法。而这两种评价方法均需借助HPLC法进行测定。本研究所建立的HPLC法专属性强、精密度和稳定性好、准确度高,可同时测定复方奥硝唑贴膜中奥硝唑和地塞米松磷酸钠的含量,适用于该制剂的质量控制,并可为后期剂型评价奠定基础。

参考文献

- [1] 田怀平.奥硝唑的药理和临床[C]//2002年中国药学会医院药学学术年会,2002.
- [2] 付小六.高效液相色谱法测定醋酸地塞米松片的含量均匀度[J].中国药业,2006,15(17):35.
- [3] 梁红云.复方奥硝唑缓释膜的制备与临床应用[J].医药导报,2007,26(5):537.
- [4] 李好,刘金来,李笑慧,等.复方奥硝唑壳聚糖口腔溃疡药膜的制备及其质量控制[J].中国药房,2014,25(17):1595.
- [5] 张涛,邓行文,钟华贵,等.复方奥硝唑口腔溃疡膜的研制与质量评价[J].海峡药学,2008,20(4):19.
- [6] 张庆友,王蓓,朱国忠,等.复方奥硝唑口腔溃疡复合膜的制备及质量控制[J].中国药师,2010,13(9):1279.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:24.
- [8] Nair AB, Kumria R, Harsha S, et al. In vitro techniques to evaluate buccal films[J]. J Control Release, 2013, 166(1):10.

(收稿日期:2015-08-24 修回日期:2016-06-14)

(编辑:周 箐)