

# HPLC法同时测定氯苯醇溶液中氯霉素和盐酸苯海拉明的含量<sup>Δ</sup>

刘珊\*, 蒋琳兰, 谢新民, 晏明, 李冬, 李腾霞, 李辉, 林兰兰, 韩丽萍<sup>#</sup>(广州军区广州总医院药剂科, 广州510010)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3847-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.34

**摘要** 目的:建立同时测定氯苯醇溶液中氯霉素和盐酸苯海拉明含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C<sub>18</sub>,流动相为含0.01 mol/L庚烷磺酸钠的磷酸盐缓冲液-乙腈(66.5:33.5, V/V),柱温为35℃,流速为1 ml/min,检测波长为盐酸苯海拉明258 nm、氯霉素277 nm,进样量为10 μl。结果:氯霉素、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为34.8~139.4 μg/ml( $r=0.999\ 8$ )、93.0~930.5 μg/ml( $r=0.999\ 8$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为97.70%~104.02%、96.72%~101.72%,RSD分别为2.2%、1.6%( $n=9$ )。结论:该方法专属性强、结果准确、精密度好,适用于氯苯醇溶液的质量控制。

**关键词** 氯苯醇溶液;氯霉素;盐酸苯海拉明;含量

## Simultaneous Contents Determination of Chloramphenicol and Diphenhydramine Hydrochloride in Chlorobenzene Alcohol Solution by HPLC

LIU Shan, JIANG Linlan, XIE Xinmin, YAN Ming, LI Dong, LI Tengxia, LI Hui, LIN Lanlan, HAN Liping(Dept. of Pharmacy, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous contents determination of chloramphenicol and diphenhydramine hydrochloride in Chlorobenzene alcohol solution. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C with mobile phase of phosphate buffer-acetonitrile (66.5:33.5, V/V) containing 0.01 mol/L sodium heptane, column temperature was 35℃, flow rate was 1 ml/min, detection wavelength was 258 nm for diphenhydramine hydrochloride and 277 nm for chloramphenicol, the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 34.8-139.4 μg/ml for chloramphenicol ( $r=0.999\ 8$ ) and 93.0-930.5 μg/ml for diphenhydramine hydrochloride ( $r=0.999\ 8$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 97.70%-104.02% (RSD=2.2%,  $n=9$ ) and 96.72%-101.72% (RSD=1.6%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is specific, accurate with good precision, and suitable for the quality control of Chlorobenzene alcohol solution.

**KEYWORDS** Chlorobenzene alcohol solution; Chloramphenicol; Diphenhydramine hydrochloride; Content

续表3

Continued tab 3

	0.931 9			0.052 2		
10	3.902 5	3.870 3	0.72	0.229 2	0.226 4	1.08
	3.853 0			0.225 1		
	3.855 3			0.224 8		
11	1.382 8	1.395 3	2.52	0.055 7	0.054 2	2.39
	1.368 1			0.053 3		
	1.455 1			0.053 7		

### 3 讨论

清热解暑类药材常具有显著的解热药理作用,现已发现野黄芩苷、蒙花苷常是解热作用的物质基础。冰糖草临床上具有显著的解热作用,在药材主要有效成分尚未明确时,可以考虑将与清热解暑作用密切相关的单体成分(野黄芩苷和蒙花苷)作为指标,采用HPLC法进行质量监控,以补充现有标准

<sup>Δ</sup> 基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(No. 14ZJZ03-3);广州市科技计划项目(No.201509010012)

\* 药士。研究方向:中药化学与制剂分析。E-mail: 971607680@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:主任药师。研究方向:医院药事管理。E-mail: hliping@163.com

的不足。

冰糖草为一味常见的壮药,分布于广西各地,采收按传统习惯为全年可采。由本研究结果可见,广西各产地冰糖草药材中野黄芩苷和蒙花苷的含量差异较大,分别在0.924 9~5.410 8 mg/g和0.043 2~0.235 7 mg/g之间;从不同采收季节及不同产地数据来看,规律不明显。提示冰糖草最佳产地与采收季节应综合考虑临床疗效,才能得到可靠结果。

本试验采用HPLC法,选择Phenomenex C<sub>18</sub>为色谱柱、乙腈-0.05%磷酸梯度洗脱为流动相、330 nm为检测波长,测定冰糖草中野黄芩苷和蒙花苷含量。结果表明,本方法操作简便,稳定性、重复性好,可用于冰糖草中野黄芩苷、蒙花苷含量的同时测定。

### 参考文献

- [1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准: 第二卷[S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2011: 134.
- [2] 朱华, 刘蕊蕊, 黄茂春, 等. 冰糖草的生药学研究[J]. 广西中医学院学报, 2007, 10(2): 63.
- [3] 马雯芳, 邓慧连, 蔡毅, 等. 壮药冰糖草质量标准初步研究[J]. 广西中医药, 2012, 35(4): 51.

(收稿日期:2015-07-18 修回日期:2015-09-21)

(编辑:张静)

氯苯醇溶液是由氯霉素、盐酸苯海拉明和75%乙醇等配制而成,具有抗菌消炎作用,为皮肤科较常用的医院制剂,临床上主要用于痤疮(青春痘)、脂溢性皮炎、毛囊炎、痱子等的治疗,在我院临床应用已有10余年。其中的氯霉素属抑菌性广谱抗菌药物,盐酸苯海拉明属于抗组胺药物。本研究中,笔者参考相关文献<sup>[1-2]</sup>,建立了以高效液相色谱法(HPLC)同时测定氯苯醇溶液中氯霉素和盐酸苯海拉明含量的方法,旨在为该制剂的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括二元泵、自动进样装置、二极管阵列检测器(DAD)、柱温箱等(美国安捷伦公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);HWS-28型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);BP211D型十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)。

### 1.2 药品与试剂

氯霉素对照品(批号:130555-201203,纯度>99.8%)、盐酸苯海拉明对照品(批号:100066-199705,纯度>99.8%)均由中国食品药品检定研究院提供;氯苯醇溶液(我院制剂室自制,批号:141009、141223、150415);磷酸二氢钾(分析纯,广州化学试剂厂);乙腈(色谱纯,美国迪马公司);甲醇(分析纯,广州化学试剂厂);三乙胺(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);磷酸(分析纯,北京化工厂);庚烷磺酸钠(分析纯,天津大茂化学试剂厂);水为自制纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[3]</sup>

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 含0.01 mol/L庚烷磺酸钠的磷酸盐缓冲液(6.8 g磷酸二氢钾,加0.01 mol/L庚烷磺酸钠溶液溶解后,定容至1 L,加入三乙胺5 ml,用磷酸调节pH至3.45)-乙腈(66.5:33.5, V/V);柱温: 35℃;流速: 1 ml/min;检测波长: 盐酸苯海拉明258 nm、氯霉素277 nm;进样量: 10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 (1)氯霉素测定用供试品溶液:精密量取样品1 ml,置于100 ml量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。(2)盐酸苯海拉明测定用供试品溶液:取样品适量,滤过,即得。

2.2.2 对照品溶液 (1)氯霉素对照品贮备液和对照品溶液:精密称取氯霉素对照品8.71 mg,置于10 ml量瓶中,加入1 ml甲醇溶解后,加入流动相稀释至刻度,制成质量浓度为0.871 mg/ml的氯霉素对照品贮备液。精密称取氯霉素对照品10.08 mg,置于100 ml量瓶中,加入1 ml甲醇溶解后,加入流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,制成每1 ml中含100.8 μg的氯霉素对照品溶液。(2)盐酸苯海拉明对照品贮备液和对照品溶液:精密称取盐酸苯海拉明对照品18.61 mg,置于10 ml量瓶中,加入适量水溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为1.861 mg/ml的盐酸苯海拉明对照品贮备液。精密称取盐酸苯海拉明对照品10.12 mg,置于20 ml量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,制成每1 ml中含506 μg的盐酸苯海拉明对照品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 (1)氯霉素阴性对照溶液:参照氯苯醇溶液处方称取除氯霉素外的其他成分和辅料,按处方和制备工艺制成氯霉素阴性样品,精密量取1 ml置于100 ml量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,制成氯霉素阴性对照溶

液。(2)盐酸苯海拉明阴性对照溶液:参照氯苯醇溶液处方称取除盐酸苯海拉明外的其他成分和辅料,按处方和制备工艺制成盐酸苯海拉明阴性样品,精密量取1 ml置于100 ml量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,制成盐酸苯海拉明阴性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

精密吸取“2.2”项下氯霉素和盐酸苯海拉明对照品溶液、氯霉素和盐酸苯海拉明测定用供试品溶液、氯霉素和盐酸苯海拉明阴性对照溶液各10 μl,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,供试品在与对照品相应保留时间处均有相同的色谱峰出现,而阴性对照在该保留时间处均无色谱峰出现,表明其他成分对目标成分测定无干扰,该方法专属性好。

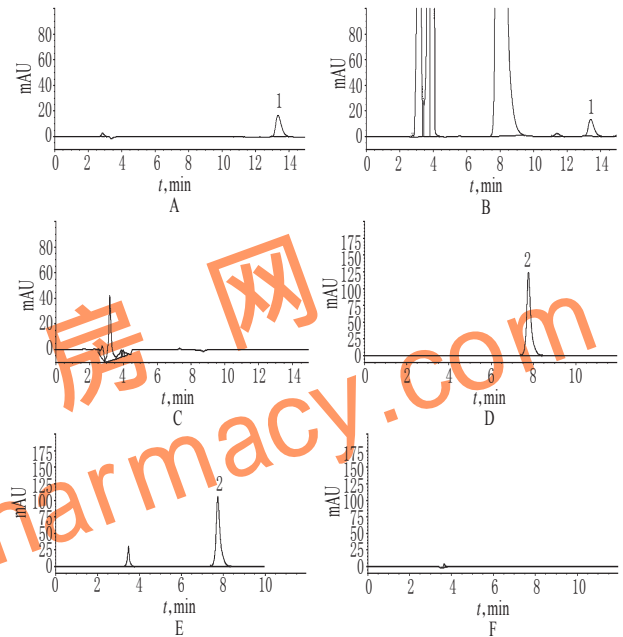


图1 高效液相色谱图

A.盐酸苯海拉明对照品;B.盐酸苯海拉明测定用供试品;C.盐酸苯海拉明阴性对照;D.氯霉素对照品;E.氯霉素测定用供试品;F.氯霉素阴性对照;1.盐酸苯海拉明;2.氯霉素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance of diphenhydramine hydrochloride; B.test sample of diphenhydramine hydrochloride; C.negative control of diphenhydramine hydrochloride; D.reference substance of chloramphenicol; E.test sample of chloramphenicol; F.negative control of chloramphenicol; 1.diphenhydramine hydrochloride; 2.chloramphenicol

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.2”项下的氯霉素对照品贮备液40、60、80、100、120、140、160 μl和盐酸苯海拉明对照品贮备液50、100、200、250、300、400、500 μl,各置于1 ml量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀,分别取10 μl按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x, μg/ml)为横坐标进行线性回归,得氯霉素回归方程为 $y=17\ 070x-42.843$ ( $r=0.999\ 8$ )、盐酸苯海拉明回归方程为 $y=821x-9.097\ 2$ ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,氯霉素、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为34.8~139.4、93.0~930.5 μg/ml。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.2”项下氯霉素对照品溶液和盐酸苯海拉明对照品溶液各适量,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,氯霉素和盐酸苯海拉明峰面积的RSD分别

为0.11%、0.80% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.6 稳定性试验

取“2.2.1”项下氯霉素测定用供试品溶液和盐酸苯海拉明测定用供试品溶液(批号:141009)各适量,分别于室温放置0、1、2、3、5、7、9、11、13、20 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,氯霉素和盐酸苯海拉明峰面积的RSD分别为0.91%、0.95% ( $n=10$ ),表明两种供试品溶液在室温放置20 h内基本稳定。

## 2.7 重复性试验

取同一批号样品(批号:141009)适量,共6份,分别按“2.2.1”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两种成分含量。结果,氯霉素、盐酸苯海拉明含量的RSD分别为1.71%、1.10% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.8 加样回收率试验

取批号为141009的样品(含氯霉素9.186 8 mg/ml)1 ml,置于10 ml量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取50  $\mu$ l,共9份,分别置于1 ml量瓶中,每3份一组加入低、中、高质量的氯霉素对照品,再加入流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过;取批号为141009的样品(含盐酸苯海拉明0.408 3 mg/ml)500  $\mu$ l,共9份,分别置于1 ml量瓶中,每3份一组加入低、中、高质量的盐酸苯海拉明对照品,再加入流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过。取上述两种加样回收率试验溶液按“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( $n=9$ )

待测成分	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, %
氯霉素	0.045 9	0.017 4	0.064 0	104.02	100.13	2.2
	0.045 9	0.017 4	0.062 9	97.70		
	0.045 9	0.017 4	0.063 2	99.43		
	0.045 9	0.043 6	0.089 0	98.85		
	0.045 9	0.043 6	0.090 3	101.83		
	0.045 9	0.043 6	0.090 1	101.38		
	0.045 9	0.069 7	0.115 0	99.14		
	0.045 9	0.069 7	0.116 4	101.15		
	0.045 9	0.069 7	0.114 0	97.70		
盐酸苯海拉明	0.204 2	0.186 1	0.388 3	98.93	99.69	1.6
	0.204 2	0.186 1	0.384 2	96.72		
	0.204 2	0.186 1	0.386 7	98.07		
	0.204 2	0.279 2	0.483 9	100.18		
	0.204 2	0.279 2	0.483 3	99.96		
	0.204 2	0.279 2	0.487 3	101.40		
	0.204 2	0.372 2	0.578 1	100.46		
	0.204 2	0.372 2	0.575 5	99.76		
	0.204 2	0.372 2	0.582 8	101.72		

## 2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.1”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按外标法计算其中氯霉素和盐酸苯海拉明的含量,结果见表2。

## 3 讨论

表2 样品含量测定结果( $n=2$ , mg/ml)

Tab 2 Results of contents determination of samples ( $n=2$ , mg/ml)

样品批号	盐酸苯海拉明	氯霉素
141009	0.408 3	9.186 8
141223	0.398 4	9.406 2
150415	0.392 6	9.787 3

采用紫外分光光度法对氯霉素对照品溶液和盐酸苯海拉明对照品溶液在200~400 nm波长范围进行扫描。结果显示<sup>[1]</sup>,盐酸苯海拉明在258 nm波长处有最大吸收峰、氯霉素在277 nm波长处有最大吸收峰,而盐酸苯海拉明阴性对照在258 nm波长处无吸收、氯霉素阴性对照在277 nm波长处无吸收。故本试验确定盐酸苯海拉明测定波长为258 nm,氯霉素测定波长为277 nm。

原质量标准中,氯霉素采用C<sub>8</sub>色谱柱进行分析,笔者曾使用HQ sil C<sub>8</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m)对氯霉素进行含量测定,结果氯霉素峰保留时间超过15 min,且柱效不高。参考有关文献<sup>[4]</sup>,改用Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m),此时氯霉素峰的保留时间不超过8.5 min。故本试验最终采用该色谱柱进行测定。

本研究主要目的是对氯苯醇溶液的质量标准进行提高,旨在更加准确地测定该制剂中氯霉素和盐酸苯海拉明的含量。笔者在供试品溶液的制备方法摸索过程中发现,由于氯苯醇中含氯霉素和盐酸苯海拉明的量差距较大,使用稀释100倍的供试品溶液无法测定盐酸苯海拉明的含量,故参考相关文献<sup>[5-6]</sup>,测定氯霉素和盐酸苯海拉明时,一个用不经稀释的氯苯醇溶液制备供试品溶液;另一个用经稀释的氯苯醇溶液制备供试品溶液。

综上所述,本方法专属性强、结果准确、精密度好,适用于氯苯醇溶液的质量控制。

## 参考文献

- [1] 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, 2015:29-31、1 029.
- [2] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗制剂规范[S]. 2版. 北京:人民军医出版社, 2003:89、100.
- [3] 张燕,孙岚. 高效液相色谱法测定氯霉素溶液含量[J]. 医药导报, 2008, 27(8):986.
- [4] 邢蓉,邓子熠,陈根德. 高效液相色谱法同时测定止痒酊中三组分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(3):277.
- [5] 张军,李瑞林. 高效液相色谱法测盐酸苯海拉明霜含量[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(1):42.
- [6] 涂初芳,蒋藤川. 高效液相色谱法测氯霉素含量[J]. 中国药师, 2010, 13(12):1 832.

(收稿日期:2015-10-18 修回日期:2016-08-18)

(编辑:周 箐)