

HPLC法同时测定复方螺内酯凝胶中螺内酯和红霉素的含量

樊其忠*, 李新新, 薄明香, 胡丽敏, 王玉[#](滨州医学院附属医院药学部, 山东滨州 256603)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4295-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.42

摘要 目的:建立同时测定复方螺内酯凝胶中螺内酯和红霉素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Thermo-Hypersil ODS2-C₁₈,流动相为0.1 mol/L 磷酸二氢铵溶液(用三乙醇胺调节pH为7.0)-乙腈(60:40, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为215和238 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μl。结果:螺内酯和红霉素的检测质量浓度分别在0.251 6~5.032 0、0.577 2~11.544 0 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.83%;平均回收率分别为97.8%(RSD=0.74%, $n=9$)、96.7%(RSD=2.60%, $n=9$)。结论:本方法操作简便,重复性好,结果准确、可靠,可用于复方螺内酯凝胶的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;复方螺内酯凝胶;螺内酯;红霉素;含量测定

Simultaneous Determination of Spironolactone and Erythromycin in Compound Spironolactone Gel by HPLC

FAN Qi-zhong, LI Xin-xin, BO Ming-xiang, HU Li-min, WANG Yu (Dept. of Pharmacy, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Shandong Binzhou 256603, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of spironolactone and erythromycin in Compound spironolactone gel. METHODS: HPLC was performed on the column of Thermo-Hypersil ODS2-C₁₈ with mobile phase of 0.1 mol/L ammonium dihydrogen phosphate solution (pH was adjusted to 7.0 by triethylamine)-acetonitrile (60:40, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 215 nm and 238 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 5 μl. RESULTS: The linear range was 0.251 6-5.032 μg/ml for spironolactone and 0.577 2-11.544 μg/ml ($r=0.999\ 9$) for erythromycin ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 0.83%; average recoveries were 97.8% (RSD=0.74%, $n=9$) and 96.7% (RSD=2.60%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, reproducible, accurate and reliable, and can be used for the quality control of Compound spironolactone gel.

KEYWORDS HPLC; Compound spironolactone gel; Spironolactone; Erythromycin; Content determination

痤疮是一种雄性激素分泌过多引起的皮质问题,多发生于青少年,表现为丘疹伴有粉刺或脓疱,严重者伴有脓肿或结节,并且病情顽固,易反复^[1]。临床上用于治疗痤疮的外用制剂很多,但疗效往往不够理想。为此,我院制备了以螺内酯和红霉素为主药、以卡波姆为凝胶基质的复方螺内酯凝胶。红霉素主要用于抗革兰阳性菌、厌氧菌、衣原体和支原体等感染。螺内酯是抗雄激素类药,可抑制激素生成酶的活性,减少雄激素的产生;还可直接作用于皮脂腺,与二氢睾酮竞争雄激素受体,阻止二氢睾酮与雄激素受体结合,从而抑制皮脂腺的分泌。二者联合用药,可在抗菌的同时抑制皮脂分泌,对治疗寻常痤疮具有较好的疗效^[1-2]。目前,有关螺内酯的含量测定方法已有较多文献报道,多采用高效液相色谱(HPLC)法测定^[3-4],但同时测定复方凝胶制剂中螺内酯和红霉素的含量的文献报道比较少。因此,本试验建立了以HPLC法同时测定复方螺内酯凝胶中螺内酯和红霉素含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

Agilent-1260 HPLC仪,含二极管阵列检测器等(美国Agilent公司);XS205DU电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0543-3256752

[#] 通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:0543-3256752。E-mail:byfywy@163.com

复方螺内酯凝胶(自制,批号:140528、140621、140714)。红霉素、螺内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为130307、100193,纯度分别为93.5%、98.0%);卡波姆(南京威尔化工有限公司,批号:20130102);乙腈、甲醇均为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为自制纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo-Hypersil ODS2-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1 mol/L 磷酸二氢铵溶液(用三乙醇胺调节pH至7.0)-乙腈(60:40, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:215和238 nm;柱温:30 ℃;进样量:5 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 分别精密称取螺内酯对照品25.67 mg和红霉素对照品61.73 mg,置于100 ml量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,使质量浓度分别为0.251 6、0.577 2 mg/ml,作为对照品溶液,备用。

2.2.2 供试品溶液 取本品约4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加氯仿50 ml,搅拌均匀,超声处理(功率:200 W,频率:40 kHz)45 min,置冰浴中冷却10 min,滤过;滤渣及锥形瓶用20 ml氯仿分2次洗涤后滤过,合并滤液;滤渣加无水乙醇50 ml,搅拌,超声处理(功率:200 W,频率:40 kHz)30 min,置冰浴中至凝固,滤过;滤渣及锥形瓶用20 ml无水乙醇分2次洗涤后滤过,合并滤液,挥干;残渣加流动相复溶,转移至100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,备用。

2.2.3 空白样品溶液 按照复方螺内酯凝胶的处方工艺制备缺螺内酯和红霉素原料药的空白样品,取约5 g,按“2.2.2”项下方法操作,制备空白样品溶液,备用。

2.3 系统适用性和专属性试验

分别取“2.2”项下的空白样品、对照品和供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,红霉素、螺内酯峰与其他峰的分度均大于1.5,且理论板数按红霉素、螺内酯峰计算分别为20 584、19 910;空白基质并不干扰螺内酯和红霉素的含量测定。

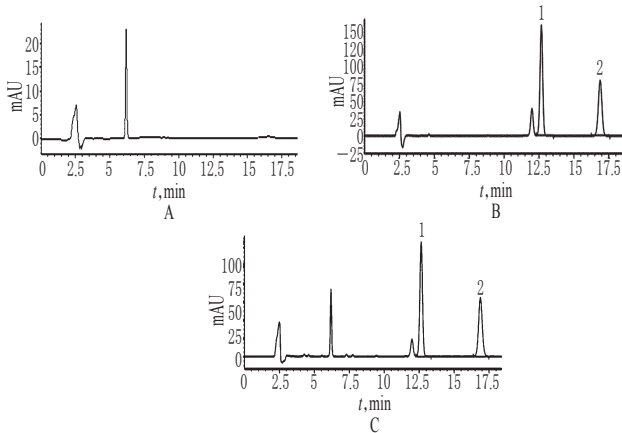


图1 高效液相色谱图

A.空白样品;B.对照品;C.供试品;1.红霉素;2.螺内酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank sample; B. reference substance; C. test sample; 1. spironolactone; 2. erythromycin

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,添加流动相稀释,制备一系列线性关系工作液,使螺内酯和红霉素质量浓度分别为0.251 6、1.006 4、2.012 8、3.019 2、4.025 6、5.032 0 $\mu\text{g/ml}$ 和0.577 2、2.308 8、4.617 6、6.926 4、9.235 2、11.544 0 $\mu\text{g/ml}$,按“2.1”项下的色谱条件进样,分别测定峰面积。以待测成分质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得螺内酯和红霉素回归方程分别为 $y=4 071.9x-27.243(r=0.999 9)$ 和 $y=851.94x+4.724 6(r=0.999 9)$ 。结果表明,螺内酯和红霉素的检测质量浓度线性范围分别为0.251 6~5.032 0和0.577 2~11.544 0 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,螺内酯、红霉素峰面积的RSD分别为0.13%、0.20% ($n=6$),表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下的供试品溶液(批号:140621)适量,分别在20~25 $^{\circ}\text{C}$ 放置0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h时,按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,螺内酯、红霉素峰面积的RSD分别为0.31%、0.20% ($n=13$),表明供试品溶液的稳定性良好。

2.7 重复性试验

精密称取同一批号(140621)样品约5 g,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积并计算含量。结果,螺内酯、红霉素含量的RSD分别为0.83%、0.45% ($n=6$),表明本方法的重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取空白基质约0.5 g,按照低、中、高3个浓度分别加入对照品溶液1.6、2.0、2.4 ml,搅拌均匀,按照“2.2.2”项下方法操作,制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=9$)					
待测成分	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD %
螺内酯	0.402 6	0.389 3	96.7	97.8	0.74
	0.402 6	0.393 7	97.8		
	0.402 6	0.393 7	97.8		
	0.503 2	0.494 1	98.2		
	0.503 2	0.490 1	97.4		
	0.503 2	0.494 1	98.2		
	0.603 8	0.599 0	99.2		
	0.603 8	0.590 5	97.8		
	0.603 8	0.586 3	97.1		
红霉素	0.923 5	0.912 4	98.8	96.7	2.60
	0.923 5	0.898 6	97.3		
	0.923 5	0.882 9	95.6		
	1.154 4	1.090 9	94.5		
	1.154 4	1.073 6	93.0		
	1.154 4	1.082 8	93.8		
	1.385 3	1.381 1	99.7		
	1.385 3	1.374 2	99.2		
	1.385 3	1.361 7	98.3		

2.9 样品含量测定

精密称取3个批次的复方螺内酯凝胶样品各约4 g,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,并采用外标法计算含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

批号	螺内酯		红霉素	
	含量, %	RSD, %	含量, %	RSD, %
140528	97.33	0.68	99.89	1.27
140621	98.33	1.74	100.60	0.97
140714	97.33	1.05	98.97	1.79

3 讨论

3.1 波长的选择

将“2.2.1”项下对照品溶液用紫外分光光度计在200~400 nm波长范围进行扫描。结果显示,红霉素在215 nm波长处有最大吸收,螺内酯在238 nm波长处有最大吸收。因此,本试验的测定波长选择215、238 nm。

3.2 色谱柱的选择

在选择色谱柱时,2010年版《中国药典》以及相关文献^[6-9]均采用了 C_{18} 色谱柱,因此,本试验最终选择了Thermo-Hypersil ODS2- C_{18} 色谱柱。

3.3 流动相的选择

红霉素在中性和弱碱性条件下较稳定,而在酸性条件下不稳定,pH低于4时迅速被破坏;螺内酯在酸性和中性条件下较稳定,而在碱性条件下不稳定^[3,7]。由此,本试验以甲醇-水(55:45, V/V)、0.1 mol/L磷酸二氢铵溶液-乙腈(60:40, V/V)为备选流动相,相比之下采用后者时两种成分峰形及分离度较好,再加入三乙醇胺调节pH为7.0时,峰形、分离度和基线又

GC法同时测定复方苯海拉明搽剂中樟脑和薄荷脑的含量

苟林宏^{1*}, 安宝文², 王俊丽¹, 刘 舂¹(1.兰州军区联勤部药品仪器检验所, 兰州 730050; 2.兰州大学药学院, 兰州 730000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4297-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.43

摘要 目的: 建立同时测定复方苯海拉明搽剂中樟脑和薄荷脑含量的方法。方法: 采用气相色谱法。色谱柱为 Agilent 19095N-123 INNOWAX 毛细管柱, 柱温为 120 ℃, 进样口温度为 220 ℃, 检测器为氢火焰离子化检测器, 检测器温度为 260 ℃, 载气为氮气, 柱流速为 6.0 ml/min, 空气流速为 450 ml/min, 氮气流速为 40 ml/min, 分流比为 20:1, 进样量为 1 μl。结果: 樟脑和薄荷脑质量浓度线性范围为 0.612~6.12、0.593~5.93 mg/ml ($r=0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 加样回收率分别为 98.0%~100.7%、98.7%~100.7%, RSD 分别为 1.0%、0.7% ($n=6$)。结论: 该方法操作简便、结果准确、重复性好, 可用于测定复方苯海拉明搽剂中樟脑和薄荷脑的含量。

关键词 气相色谱法; 复方苯海拉明搽剂; 樟脑; 薄荷脑; 含量测定

Simultaneous Determination of Camphor and Menthol in Compound Diphenhydramine Liniment by GC

GOU Lin-hong¹, AN Bao-wen², WANG Jun-li¹, LIU Xi¹(1. Institute for Drug Control of Lanzhou Military Region, Lanzhou 730050, China; 2. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of camphor and menthol in Compound diphenhydramine liniment. METHODS: GC was performed on the column of Agilent 19095N-123 INNOWAX capillary column, column temperature was 120 ℃, injection volume temperature was 220 ℃, FID detector was used with the temperature of 260 ℃, carrier gas was nitrogen gas, flow of column was 6.0 ml/min, air was 450 ml/min, hydrogen gas was 40 ml/min, split ratio was 20:1 and injection volume was 1 μl. RESULTS: The linear range of mass concentration was 0.612-6.12 mg/ml ($r=0.999\ 9$) for camphor and 0.593-5.93 mg/ml ($r=0.999\ 9$) for menthol; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; the recoveries were respectively 98.0%-100.7% (RSD=1.0%, $n=6$) and 98.7%-100.7% (RSD=0.7%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the contents determination of camphor and menthol in Compound diphenhydramine liniment.

KEYWORDS GC; Compound diphenhydramine liniment; Camphor; Menthol; Content determination

复方苯海拉明搽剂收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》, 各大部队医院中均有生产。该药现行质量标准中对樟脑、薄荷脑仅采用化学鉴别, 专属性不强, 且无含量测定规范, 不能全面、准确地评价制剂的质量。为此, 笔者参考相关研究^[1-4],

得到进一步改善, 故最终选择 0.1 mol/L 磷酸二氢铵溶液(用三乙醇胺调节 pH 为 7.0)-乙腈(60:40, V/V)为流动相。

综上所述, 该方法操作简便, 重复性好, 结果准确、可靠, 可用于复方螺内酯凝胶的质量控制。

参考文献

- [1] Kamal M, Polat M. Effect of different doses of isotretinoin treatment on the levels of serum homocysteine, vitamin B₁₂ and folic acid in patients with acne vulgaris: a prospective controlled study[J]. *J Pak Med Assoc*, 2015, 65(9):950.
- [2] Grange F, Scrivener Y, Koessle A, et al. Spironolactone-induced pemphigoid[J]. *Ann Dermatol Venereol*, 1997, 124

采用气相色谱(GC)法同时测定复方苯海拉明搽剂中樟脑和薄荷脑的含量, 以为完善其质量标准提供依据。

1 材料

1.1 仪器

(10):700.

- [3] 彭贤东, 唐志力, 龙凤, 等. HPLC法同时测定替硝唑螺内酯乳膏中替硝唑和螺内酯的含量[J]. *中国药房*, 2013, 24(5):468.
- [4] 王菊荣, 王月军, 叶勇, 等. HPLC法测定复方药物微乳膏中螺内酯的含量[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(12):1883.
- [5] 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, 2010:781.
- [6] 戴红, 胡昌勤. HPLC法分析罗红霉素及其片剂含量和相关物质[J]. *药物分析杂志*, 2002, 22(3):185.
- [7] 孔爱英, 钟琼. 高效液相色谱法测定螺内酯片的含量[J]. *解放军药学报*, 2003, 19(4):272.

(收稿日期:2015-03-13 修回日期:2015-09-09)

(编辑:周 箭)

* 主管药师。研究方向: 药物分析。电话:0931-8975414