

RP-HPLC法测定氯霉素地砒软膏中3种主药的含量

曾玉梅*, 陈繁华(梅州市食品药品监督管理局, 广东梅州 514071)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1271-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.43

摘要 目的:建立同时测定氯霉素地砒软膏中氯霉素、氯苯砒及地塞米松含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C₁₈,流动相为0.1%庚烷磺酸钠溶液-甲醇(70:30, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为272 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:氯霉素、氯苯砒和地塞米松的质量浓度分别在20.12~201.2、10.25~102.5、0.202 6~2.026 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好线性关系($r=0.998\ 7、0.999\ 9、0.999\ 9$);精密性、重复性、稳定性试验的RSD≤1.19%;回收率分别为99.66%(RSD=0.34%, $n=9$)、99.84%(RSD=0.41%, $n=9$)与99.94%(RSD=0.49%, $n=9$)。结论:该方法操作简便快捷,可为氯霉素地砒软膏的质量控制提供参考。

关键词 氯霉素地砒软膏;反相高效液相色谱法;含量;氯霉素;氯苯砒;地塞米松

Content Determination of Three Main Drugs in Chloramphenicol Sulfone Ointment by HPLC

ZENG Yu-mei, CHEN Fan-hua (Meizhou Institute for Food and Drug Control, Guangdong Meizhou 514071, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of chloramphenicol, dapsone and dexamethasone in Chloramphenicol sulfone ointment (CSO). METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column. The mobile phase was 0.1% sodium heptanesulfonate-methanol (70:30, V/V); the flow rate was 1.0 ml/min; the wavelength was 272 nm; the column temperature was 30 ℃; the injection volume was 20 μl. RESULTS: In the chromatography of test products, there was a good linear relationship of chloramphenicol, dapsone and dexamethasone in the range of 20.12-201.2, 10.25-102.5, 0.202 6-2.026 μg/ml, respectively (r were 0.998 7, 0.999 9, 0.999 9); RSDs of precision, reproducibility and stability test were lower than 1.19%. The recovery rate was 99.66% (RSD=0.34%, $n=9$), 99.84% (RSD=0.41%, $n=9$) and 99.94% (RSD=0.49%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, fast and can provide reference for the quality control of CSO.

KEYWORDS Chloramphenicol sulfone ointment; RP-HPLC; Content; Chloramphenicol; Dapsone; Dexamethasone

氯霉素地砒软膏为梅州市梅县慢性病防治站自制品,由2%(g/g)氯霉素、1%(g/g)氯苯砒、0.4%(g/g)地塞米松加基质组成。氯霉素属苯羟胺类抗菌药物^[1],具有广谱抗菌作用,对各种炎症引起的皮肤病均有一定疗效;氯苯砒具有较强的抗炎及免疫抑制作用,对疱疹样皮炎有显著疗效^[2];地塞米松

属肾上腺皮质激素,具有抗炎、抗过敏作用;三者合理配伍使用可对并发感染的湿疹、皮炎等瘙痒性皮肤病有显著疗效^[3-4]。该药原质量标准为医院制剂自制标准,但仅有鉴别方法。为了更好地控制该药的内在质量,保证用药的安全、有效,笔者参考有关文献^[5-8],采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定该

参考文献

- [1] 张淑芳.治疗糖尿病的新药NESINA获批在日本上市[J].中国执业药师,2010,12(6):54.
- [2] 周映红,黄文龙,张惠斌,等.GLP-1受体激动剂及DDP-IV抑制剂的研究进展[J].中国药科大学学报,2008,39(5):385.
- [3] 王珊,范鸣.抗2型糖尿病药物:Alogliptin[J].药学进展,2008,32(7):326.
- [4] 安富荣,崔岚,王勤.治疗2型糖尿病新药二肽基肽酶-4抑制药阿格列汀[J].中国药师,2012,15(1):116.

- [5] 赵兴旺,吴冰,赵临襄.阿格列汀:Alogliptin[J].中国药物化学杂志,2013,4(23):337.
- [6] 刘昭文,吴龙火,王恩军.苯甲酸阿格列汀的合成[J].海峡药学,2011,23(9):214.
- [7] 时春娟,赵春才,陆超,等.HPLC法测定苯甲酸阿格列汀片的含量[J].中国药房,2013,24(37):3 521.
- [8] 孙著叶,乔世琴,罗兆亮.HPLC法检查苯甲酸阿格列汀原料药的有关物质[J].中国药房,2014,25(33):3 141.
- [9] 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:附录31.

(收稿日期:2014-03-23 修回日期:2014-05-02)

(编辑:申琳琳)

* 主管药师。研究方向:药品质量分析与检验。电话:0753-2319612。E-mail:may011499@163.com

产品中3种主药的含量,以为氯霉素地砒软膏的质量标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪,包含SPD-20A型检测器、LC-20AT型泵及Labsolution色谱工作站(日本岛津公司);AUW220D型分析天平(日本岛津公司);MODEL HN1006型超声波清洁剂(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

氯霉素地砒软膏(自制,批号:120430、120424、120426);氯霉素(批号:100425-201103,纯度:99.5%)、氨苯砒(批号:100114-199101,纯度:100.0%)、地塞米松(批号:100129-201105,纯度:99.6%)及氯霉素二醇物对照品(批号:130436-200704,纯度:99.5%)均由中国食品药品检定研究院提供;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.1%庚烷磺酸钠试验溶液(取0.1%庚烷磺酸钠溶液500 ml与二甲基甲酰胺5 ml、冰醋酸0.5 ml混匀)-甲醇(70:30, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:272 nm;柱温30℃;进样量:20 μl。取氯霉素、氯霉素二醇物、氨苯砒及地塞米松对照品各适量,加甲醇使溶解,用流动相稀释制成每1 ml中含氯霉素100 μg、氯霉素二醇物50 μg、氨苯砒50 μg、地塞米松2 μg的溶液作为系统适用性试验溶液,精密量取20 μl,按上述色谱条件进样测定。结果,氯霉素二醇物峰与氯霉素峰的分度度≥2.5,其他相邻峰之间的分度度≥2.0,氨苯砒峰、氯霉素和地塞米松峰的理论板数均不低于2 500。色谱见图1。

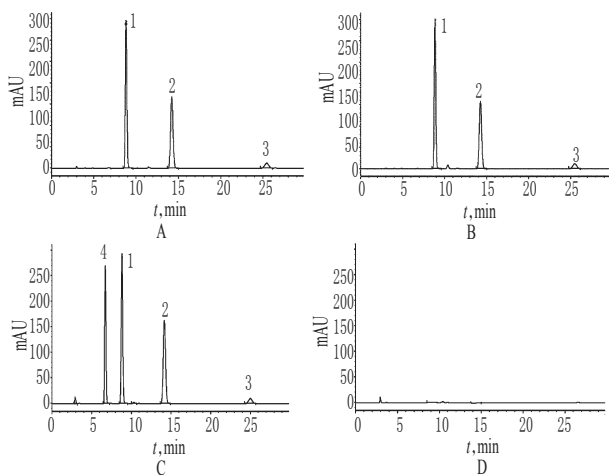


图1 高效液相色谱图

A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.系统适用性试验溶液;D.阴性空白溶液;1.氨苯砒;2.氯霉素;3.地塞米松;4.氯霉素二醇物

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference solution;B.test solution;C.system suitability test solution;D.negative blank solution;1.dapsone;2.chloramphenicol;3.dexamethasone;4.chloramphenicol glycols

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取地塞米松对照品10.31 mg,置于50 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为地塞米松对照品贮备液。取氯霉素对照品20.12 mg与氨苯砒对照品10.25

mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加甲醇25 ml使溶解,再精密量取地塞米松对照品贮备液2 ml置于同一量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品贮备液。精密量取混合对照品贮备液5 ml,置于10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,制成每1 ml含氯霉素100 μg、氨苯砒50 μg、地塞米松2 μg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品约1 g(约相当于氯霉素20 mg、氨苯砒10 mg、地塞米松0.4 mg),精密称定,置于烧杯中,加甲醇10 ml,超声(功率:200 W,频率:40 kHz)处理10 min,转移至200 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,即得每1 ml含氯霉素100 μg、氨苯砒50 μg、地塞米松2 μg的供试品溶液。

2.2.3 阴性空白溶液 取缺氯霉素、氨苯砒及地塞米松的空白基质(由硬脂酸140 g、甘油180 g、氢氧化钾5 g、尼泊金乙酯1 g、苯甲酸钠0.5 g、蒸馏水640 ml混匀组成)适量,按“2.2.2”项下方法制备,即得。

2.3 线性关系考察

精密量取混合对照品贮备液各1、2、4、6、8、10 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。分别精密量取20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x, μg/ml)为横坐标,进行线性回归,得氯霉素的回归方程为 $y=44\ 412x-43\ 228$ ($r=0.998\ 7$),氨苯砒的回归方程为 $y=94\ 384x-22\ 509$ ($r=0.999\ 9$),地塞米松的回归方程为 $y=3.9\times 10^5x-873.17$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,氯霉素、氨苯砒和地塞米松的质量浓度分别在20.12~201.2、10.25~102.5和0.202 6~2.026 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好线性关系。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下的混合对照品溶液20 μl,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,氯霉素、氨苯砒、地塞米松的峰面积RSD分别为0.40%、0.49%、0.62%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验

精密称取批号为120426的本品约1 g,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,氯霉素、氨苯砒、地塞米松含量的RSD分别为0.74%、0.84%、1.19%($n=6$),表明该方法重复性较好。

2.6 稳定性试验

精密量取同一份供试品溶液20 μl,分别于放置0、2、4、6、12 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、氨苯砒、地塞米松峰面积的RSD分别为0.89%、1.02%、0.81%($n=5$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.7 回收率试验

取氯霉素(16、20、24 mg)、氨苯砒(8、10、12 mg)和地塞米松对照品各3份(0.2、0.4、0.8 mg),精密称定,按处方比例,同时加入相应阴性空白基质(组成成分见“2.2.3”项)中,按“2.2.2”项下方法制备低、中、高不同质量浓度的供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率,结果见表1。

2.8 检测限与定量限

取混合对照品溶液适量,用流动相不断稀释后进样测定,记录峰面积。结果,在信噪比约为3:1时,测得地塞米松检测限为10.3 ng;在信噪比约为10:1时,测得地塞米松定量限为37.9 ng。

表1 回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

待测成分	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%			
氯霉素	16.34	16.22	99.27	99.66	0.34			
	16.34	16.21	99.20					
	16.34	16.21	99.20					
	20.12	20.10	99.90					
	20.12	20.11	99.95					
	20.12	20.10	99.90					
	24.18	24.15	99.88					
	24.18	24.12	99.75					
	24.18	24.16	99.92					
	氨苯砜	8.12	8.11			99.88	99.84	0.41
		8.12	8.12			100.00		
		8.12	8.16			100.49		
10.33		10.34	100.10					
10.33		10.35	100.19					
10.33		10.28	99.52					
12.09		12.01	99.34					
12.09		12.07	99.83					
12.09		12.00	99.26					
地塞米松		0.206 2	0.208 1	100.92	99.94	0.49		
	0.206 2	0.204 1	98.98					
	0.206 2	0.205 8	99.81					
	0.412 4	0.412 1	99.93					
	0.412 4	0.412 2	99.95					
	0.412 4	0.412 2	99.95					
	0.824 8	0.824 9	100.01					
	0.824 8	0.824 1	99.92					
	0.824 8	0.824 5	99.96					

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,依“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,并计算样品占标示量百分含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(%)

Tab 2 Results of content determination of samples(%)

批号	氯霉素	氨苯砜	地塞米松
120430	93.2	109.3	98.3
120424	97.9	110.8	98.1
120426	93.0	104.2	96.9

3 讨论

由于氯霉素最大吸收波长为291 nm,氨苯砜最大吸收波长为278 nm,地塞米松最大吸收波长为242 nm,将“2.2.1”项下混合对照品溶液在200~400 nm紫外-可见分光光度范围内扫描,测到其最大吸收波长为272 nm,故将272 nm作为检测波长。笔者曾对甲醇-乙酸钠^[9]、甲醇-水^[10]、甲醇-磷酸二氢钾-乙腈^[11]、磷酸二氢钾-乙腈^[12]等流动相系统进行考察,分离效果均不甚好。笔者尝试用庚烷磺酸钠作离子对试剂,加入二甲基甲酰胺,可使峰形对称,且能缩短分析时间并消除脱尾,各峰之间分离度均能达到要求。

由于本品为软膏剂,笔者用适量甲醇(氯霉素、氨苯砜与地塞米松均能在甲醇中溶解^[13])将3种主药充分溶出后,再用流动相稀释至刻度进行测定。结果,3个批号样品中氯霉素占标示量百分含量最低为93.0%、最高为97.9%,原因可能为辅料

甘油和尼泊金乙酯黏度大,样品混合不够均匀所致;氨苯砜占标示量百分含量在110%上下浮动,可能是因为投料未控制好。

在稳定性试验中,供试品溶液随着时间的增加,在6.7 min处出峰的氯霉素二醇物的峰面积亦明显增加,表明在溶液中氯霉素会降解产生氯霉素二醇物,提示供试品需临用前配制,并在12 h内测定为好。系统适用性试验中加入氯霉素二醇物对照品可使其与主峰的分离度达到要求,在本试验中分离度为3.1。进行检测限与定量限试验时,由于地塞米松含量是氯霉素的1/50,是氨苯砜的1/25,因此,只需要测定含量最小的地塞米松含量就可以计算出此次3个成分含量测定的检测限与定量限。

综上所述,本研究同时测定了氯霉素地塞米松软膏中3种主药的含量,分离效果好,操作简便快捷,可为该制剂的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 刘文英. 药物分析[M]. 5版. 人民卫生出版社, 2004: 261-265.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 临床用药须知: 化学药和生物制品卷[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1 072.
- [3] 李俊轩, 耿国秀. 对《新药与临床》刊登“抗麻风药氨苯砜的新用途”的临床验证[J]. 新药与临床, 1996, 15(3): 242.
- [4] 蒋富庆. 氯霉素与地塞米松外用治疗脓疱疮300例疗效观察[J]. 中国社区医师, 1995(1): 31.
- [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: 790.
- [6] 刘丽仙, 吴明东. 高效液相色谱法测定氯霉素地塞米松乳膏含量[J]. 医药导报, 2008, 27(8): 987.
- [7] 杨辉, 崔爱瑛. HPLC法测定复方氯霉素洗剂中氯霉素和水杨酸的含量[J]. 解放军药学报, 2007, 23(6): 470.
- [8] 来小丹, 刘松青, 林彩, 等. HPLC法同时测定头皮搽剂中氯霉素和盐酸达克罗宁的含量[J]. 解放军药学报, 2007, 25(1): 71.
- [9] 张润婕, 王亚南, 贺吉川. RP-HPLC法同时测定氯地滴眼液中氯霉素与地塞米松磷酸钠的含量[J]. 解放军药学报, 2002, 16(3): 160.
- [10] 刘丽仙, 赵洁, 梁晓美, 等. 高效液相色谱法测定氯霉素甲硝唑搽剂的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(9): 907.
- [11] 王玉忠. 高效液相色谱法测定氯霉素水杨酸酐中氯霉素和水杨酸的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(9): 915.
- [12] 罗时, 胡娟妮, 邓永琪, 等. HPLC法测定氯麻滴鼻剂中氯霉素和盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国药事, 2013, 27(10): 1 080.
- [13] 林琪珊, 洪淑华, 余良钟. 复方醋酸地塞米松乳膏有关物质的测定及其杂质的确定[J]. 中国药房, 2013, 24(9): 843.

(收稿日期: 2014-03-10 修回日期: 2014-09-10)

(编辑: 申琳琳)