

HPLC法测定洛索洛芬银乳膏中洛索洛芬银的含量

沈一唯^{1,2*}, 鄢寒^{1,2}, 黄月英^{1,2}, 石晓晴^{1,2}, 卞俊^{1#}(1.解放军第411医院药学科, 上海 200434; 2.江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)06-0851-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.06.36

摘要 目的:建立测定洛索洛芬银乳膏中洛索洛芬银含量的方法,为该制剂的质量控制提供参考。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(55:45:0.1:0.1, V/V/V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为223 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μL。结果:洛索洛芬银检测质量浓度线性范围为6.53~130.7 μg/mL($r=0.9999$);定量限为0.253 μg/mL,检测限为0.076 μg/mL;精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为96.79%~103.68%(RSD=2.23%, $n=9$)。结论:该方法操作方便、结果准确、重复性好,可用于洛索洛芬银乳膏中洛索洛芬银的含量测定。
关键词 洛索洛芬银乳膏;洛索洛芬银;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Loxoprofen Silver in Loxoprofen Silver Cream by HPLC

SHEN Yiwei^{1,2}, YAN Han^{1,2}, HUANG Yueying^{1,2}, SHI Xiaoqing^{1,2}, BIAN Jun¹(1.Dept. of Pharmacy, No.411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2.College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of loxoprofen silver in loxoprofen silver cream, and provide reference for the quality control of the preparation. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C₁₈ with mobile phase of methanol-water-glacial acetic acid-triethylamine (55:45:0.1:0.1, V/V/V/V) at a flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength was 223 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μL. RESULTS: The linear range of loxoprofen silver was 6.53-130.7 μg/mL($r=0.9999$); the limit of quantitation was 0.253 μg/mL, limit of detection was 0.076 μg/mL; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 96.79%-103.68% (RSD=2.23%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the content determination of loxoprofen silver cream.

KEYWORDS Loxoprofen silver cream; Loxoprofen silver; HPLC; Content determination

烧伤是战时及日常生活中常见的机体损伤,是由于物理、化学、放射性等因素造成的复杂的外伤性疾患^[1]。目前,外用药在烧伤中占有十分突出的作用,临床上常用磺胺嘧啶银霜治疗烧伤患者^[2-4],具有良好的抗菌消炎作用,但该药品的收敛作用较弱,更没有止痛作用^[5-6]。解放军第411医院(以下简称“我院”)自制的洛索洛芬银乳膏,具有洛索洛芬的镇痛、消炎、解热作用^[7-8]和银离子的抗菌消炎、收敛、减少渗出液的作用^[9-11];在控制烧伤感染的同时,又能消炎、镇痛、解热,控制烧伤患者创伤的恶化,达到更有效治疗烧伤的目的。鉴于目前该制剂还未建立其含量测定方法,为更好地控制该制剂的质量,达到用药有效、安全的目的,笔者参照《日本药典》^[12]中洛索洛芬钠及相关文献^[13-14]中洛索洛芬钠制剂的测定方法,建立了高效液相色谱法(HPLC)测定该制剂中洛索洛芬银含量的方法,以期为该制剂的质量控制提供参考。

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型与新技术。电话:021-65280289。E-mail:shenyiwei03@163.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:新药制剂开发与研究。电话:021-65280289。E-mail:bianjun411@163.com

1 材料

1.1 仪器

1525型HPLC仪,包括2487型紫外检测器、Breeze色谱工作站(美国Waters公司);AB104-N型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SE-3001F型电子天平(美国Ohaus公司);HWS-12型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

洛索洛芬银乳膏(解放军第411医院自制,批号:20160629、20160630、20160701,规格:1%);洛索洛芬钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100638-200401,纯度:100%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(150 mm×6.0 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(55:45:0.1:0.1, V/V/V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:223 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

2.2 溶液的制备

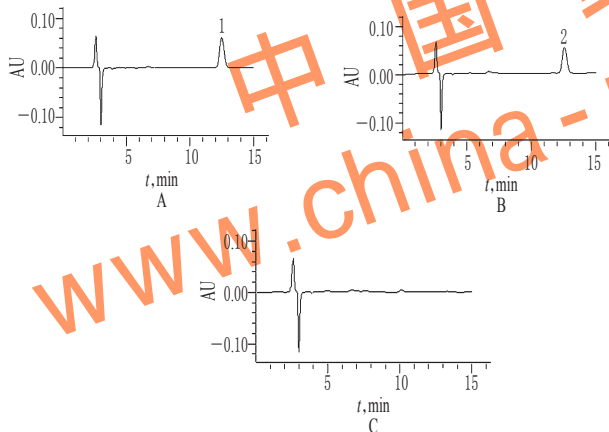
2.2.1 对照品溶液 取干燥至恒重的洛索洛芬钠对照品约10 mg,精密称定,置于100 mL量瓶中,加5 mL 5%的氨水振摇,使溶解,加甲醇定容,摇匀,作为对照品贮备液。取上述对照品贮备液2.0 mL,置于10 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为20 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品约1.0 g,精密称定,置于100 mL量瓶中,加甲醇约20 mL,在60 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴加热10 min,趁热加入5 mL 5%的氨水,振摇使样品完全溶解,加甲醇定容,摇匀,置于冰浴(烧杯中不断加冰)中冷却4 h,取出,放至室温(25 $^{\circ}\text{C}$),作为供试品贮备液。精密量取上述贮备液5 mL,置于25 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的制备工艺和处方比例制备不含洛索洛芬银的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,洛索洛芬银能达到基线分离(分离度 >1.5);理论板数以洛索洛芬银计 $\geq 3\ 000$,保留时间为12.5 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 洛索洛芬钠; 2. 洛索洛芬银

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. loxoprofen sodium; 2. loxoprofen silver

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液适量,加甲醇制成洛索洛芬钠质量浓度分别为5、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液。取上述对照品溶液各20 μL ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得洛索洛芬钠的回归方程为 $y=38\ 190x-6\ 343$ ($r=0.999\ 9$),洛索洛芬钠检测质量浓度线性范围为4.96~99.2 $\mu\text{g/mL}$ 。通过洛索洛芬银与洛索洛芬钠的

相对分子质量比[$\text{Mr}(\text{Ag}):\text{Mr}(\text{Na})=353:268$],换算得洛索洛芬银的回归方程为 $y=28\ 994x-6\ 343$ ($r=0.999\ 9$),洛索洛芬银检测质量浓度线性范围为6.53~130.7 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD)。结果,经换算,洛索洛芬银的LOQ为0.253 $\mu\text{g/mL}$,LOD为0.076 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,经换算,洛索洛芬银峰面积的RSD=0.19% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20160629)适量,分别于室温下放置0、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,洛索洛芬银峰面积的RSD=0.74% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20160629)适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,洛索洛芬银峰面积的RSD=1.67% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取同一批样品(批号:20160629)适量,共9份,每份约0.05 g,精密称定,各置于25 mL量瓶中,分别加入一定质量的洛索洛芬钠对照品,按“2.2.2”项下方法制备浓度为80%、100%、120%的供试品溶液,每个浓度各3份。取上述供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

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

取样量,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,%
0.05	0.496 8	0.404 4	0.908 0	101.68		
0.05	0.497 4	0.404 4	0.894 4	98.17		
0.05	0.493 0	0.404 4	0.903 6	101.53		
0.05	0.495 7	0.496 0	0.975 8	96.79		
0.05	0.497 8	0.496 0	0.990 2	99.27	100.53	2.23
0.05	0.494 2	0.496 0	0.992 6	100.48		
0.05	0.498 2	0.595 2	1.111 7	103.07		
0.05	0.494 5	0.595 2	1.090 0	100.05		
0.05	0.496 6	0.595 2	1.113 7	103.68		

2.10 样品含量测定

取3批样品(批号:20160629、20160630、20160701)各适量,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洛索洛芬银的含量。结果,3批样品的含量分别为

98.21%、101.02%、101.82% ($n=3$)。

3 讨论

3.1 耐用性试验

笔者曾选用不同流动相比比例[甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(60:40:0.1:0.1、65:35:0.1:0.1, $V/V/V/V$)],不同品牌色谱柱Diamonsil C₁₈(150 mm×6.0 mm, 5 μm)和Zorbax ODS (250 mm×6.0 mm, 5 μm),又分别考察了柱温变化(±5 ℃)、流速变化(±20%)时对其含量的影响^[15]。结果表明,洛索洛芬银峰面积的RSD均<2.0% ($n=3$),说明本方法在不同流动相比比例、不同型号的色谱柱、不同柱温、不同流速下耐用性良好。

3.2 供试品溶液前处理

洛索洛芬银是一种难溶性的药物,只有在氨水、硝酸等极少数溶剂中溶解。本试验采用硝酸进行溶解,但硝酸破乳效果差,不能使之较好分离;而处理乳膏样品时加入5%的氨水溶液来溶解洛索洛芬银,并在60 ℃水浴中加热可使乳膏破乳,油水分离完全。因此,本试验选择5%氨水进行溶解。在处理时选用冰浴4 h是为了使乳膏基质凝固,达到易于滤过的目的。洛索洛芬银在长时间的光照下不稳定,因此整个测定过程在具有避光条件的房间内操作。

3.3 溶剂的选择

该制剂为乳膏剂,为避免乳膏基质对含量测定的影响,笔者曾选用蒸馏水、流动相、甲醇、无水乙醇作为溶剂进行试验。结果表明,选用甲醇作为溶剂时对乳膏基质没有影响,结果准确,因此本试验选择甲醇为溶剂。此外,在之后的水浴操作过程中需确保水浴加热时间充分,如不充分会导致油水分离不完全,影响测定结果。

3.4 对照品的选择

洛索洛芬银是通过洛索洛芬钠与硝酸银合成的,目前市面上还没有其对照品。本试验色谱图中测定的是洛索洛芬酸母核,而洛索洛芬银和洛索洛芬钠均含有洛索洛芬酸同一母核,钠离子和银离子不干扰洛索洛芬酸的色谱测定,只是钠和银的原子量不同,经过洛索洛芬钠与洛索洛芬银的相对分子质量之比即能换算得洛索洛芬银的量,为避免没有洛索洛芬银对照品的困难,故本试验选用洛索洛芬钠作为对照品使用。在色谱图中,对照品溶液中含有洛索洛芬酸和钠离子,供试品溶液中含有洛索洛芬酸和银离子,在HPLC图谱中显示的峰都是洛索洛芬酸,所以二者在同一个保留时间出峰。

综上所述,本方法操作方便、结果准确、重复性好,可用于洛索洛芬银乳膏中洛索洛芬银的含量测定。

参考文献

- [1] 陈筱瑜,杨苓山,林燕喃,等.烧烫伤外用药物及剂型的研究进展[J].解放军药学学报,2012,28(2):166-168.
- [2] 陈忠江,赵志伟,段鹏,等.纳米银抗菌凝胶与磺胺嘧啶银治疗烧伤患者60例分析[J].山西医药杂志,2010,39(9):874-875.
- [3] 赵永超,李彪.磺胺嘧啶银治疗烧伤创面102例疗效观察[J].河南外科学杂志,2011,17(1):39-40.
- [4] 钱苗苗,李淑娥.磺胺嘧啶银敷料在小儿浅Ⅱ度烧伤护理中的应用[J].湖南中医药大学学报,2013,33(10):47-48.
- [5] 马虹,黄洁夫.临床医生用药大全[M].广州:广东科技出版社,2000:133.
- [6] 张坚,黄仕雄,张仲如.美宝湿润烧伤膏与磺胺嘧啶银治疗烧伤的疗效比较[J].临床合理用药杂志,2009,2(21):42-43.
- [7] 周淑琴.新型非甾体抗炎药洛索洛芬钠的研究进展[J].上海医药,2008,29(10):468-469.
- [8] 黄峰,张江林,杨春花.洛索洛芬钠治疗强直性脊柱炎的疗效与安全性评价[J].中国新药杂志,2002,11(11):878-881.
- [9] 刘琳娜,李学拥,吴晓春,等.银离子抗菌敷料用于Ⅱ度烧伤创面的疗效和安全性[J].实用药物与临床,2013,16(10):922-923.
- [10] Tian J, Wong KK, Ho CM, *et al.* Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing[J]. *Chem Med Chem*, 2007, 2(1):129-136.
- [11] 陈美婉,彭新生,吴琳娜,等.纳米银抗菌剂的研究和应用[J].中国消毒学杂志,2009,26(4):424-426.
- [12] Society of Japanese Pharmacopoeia. *The Japanese Pharmacopoeia: sixteenth edition*[S]. Tokyo: Society of Japanese Pharmacopoeia, 2011:1047.
- [13] 冀满丰.HPLC法测定洛索洛芬钠缓释片中主药的含量[J].中国现代药物应用,2008,2(12):8-9.
- [14] 杨甜,王成永.HPLC法测定洛索洛芬钠渗透泵型控释片的含量[J].安徽医药,2010,14(3):293-294.
- [15] 粟贵,刘雁鸣,龙海燕,等.HPLC法测定并比较药用级与非药用级苯甲酸钠的含量[J].中国药房,2016,27(18):2566-2569.

(收稿日期:2016-09-16 修回日期:2016-12-11)

(编辑:刘柳)