

HPLC法同时测定维舒膏中醋酸曲安奈德和维A酸的含量

肖丽丽*,丁志军,许时贵,郭宜城,王亚敏,罗美兰*(江西省皮肤病专科医院制剂室,南昌 330000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0381-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.32

摘要 目的:建立同时测定维舒膏中醋酸曲安奈德和维A酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(87:13,V/V),检测波长为254 nm(0~5 min)和350 nm(5~20 min),流速为1.0 ml/min,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:醋酸曲安奈德和维A酸的检测质量浓度线性范围分别为0.5~5.0、4.96~4.96 μg/ml($r=0.999\ 9$ 、 $0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率分别为98.37%~100.03%、98.21%~100.38%,RSD分别为0.58%、0.78%($n=6$)。结论:该方法简便、准确、快捷,适用于维舒膏中醋酸曲安奈德和维A酸的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;维舒膏;醋酸曲安奈德;维A酸;含量测定

Simultaneous Determination of Triamcinolone Acetonide Acetate and Tretinoin in Dimensional Ointment by HPLC

XIAO Lili, DING Zhijun, XU Shigui, GUO Yicheng, WANG Yamin, LUO Meilan (Preparation Room, Jiangxi Dermatoses Special Hospital, Nanchang 330000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the contents determination of triamcinolone acetonide acetate and tretinoin in Dimensional ointment. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C₁₈ with mobile phase of methanol-0.1% Phosphoric acid solution(87:13, V/V), detection wavelength was 254 nm(0-5 min) and 350 nm(5-20 min), at a flow rate of 1.0 ml/min, column temperature was 25 ℃, and volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear range was 0.5-5 μg/ml for triamcinolone acetonide acetate ($r=0.999\ 9$) and 4.96-49.6 μg/ml for tretinoin($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recoveries were 98.37%-100.03%(RSD=0.58%, $n=6$) and 98.21%-100.38%(RSD=0.78%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and fast, and suitable for the contents determination of triamcinolone acetonide acetate and tretinoin in Dimensional ointment.

KEYWORDS HPLC; Dimensional ointment; Triamcinolone acetonide acetate; Tretinoin; Content determination

维舒膏是江西省皮肤病专科医院自主开发并已获得生产批文的外用软膏类制剂,具有消炎、止痒、抗过敏及抑制角质异常的作用,可用于治疗银屑病、毛发红糠疹、掌跖角皮症等皮肤病。维舒膏主要由醋酸曲安奈德、维A酸和黄凡士林等组成。据报道,本处方中醋酸曲安奈德为糖皮质激素类药物,具有明显的抗炎、抗过敏作用,临床上多用于银屑病、慢性湿疹、神经性皮炎、皮肤瘙痒等皮肤病且疗效较好^[1];维A酸在临床上被称为皮肤科治疗学的“第三个里程碑”,角化性皮肤病是维A酸类药物的适应证,而银屑病正是角化性皮肤病的典型代表^[2-3]。因此,醋酸曲安奈德和维A酸具有协同治疗作用。随着皮肤科临床患者的不断增多,维舒膏的使用概率也在不断增加,而该制剂原标准中只对维A酸采用酸碱滴定法测定含量,已不能满足目前对其质量控制的要求。为此,本试验建立了以高效液相色谱(HPLC)法同时测定其中醋酸曲安奈德和维A酸两种主药的含量。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括G1329B型自动进样器、G1314F型紫外检测器、Open LAB CDS Chem Station Edition C.01.03版色谱工作站(美国Agilent公司);HHS-24型电热恒温水浴锅

* 工程师,硕士研究生。研究方向:新药研发及相关质量控制。E-mail: 909805714@qq.com

通信作者:副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:0791-85207669。E-mail: 14433658399@qq.com

(上海东星建材试验设备有限公司);AL204型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

维舒膏(江西省皮肤病专科医院自制,批号:20150504、20150505、20150506,规格:20 g/盒);醋酸曲安奈德对照品(批号:100125-201105,纯度:97.8%)、维A酸对照品(批号:100307-200902,纯度:99.4%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(87:13, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:25 ℃;检测波长:254 nm(0~5 min)、350 nm(5~20 min);进样量:10 μl。在此色谱条件下,醋酸曲安奈德和维A酸的色谱峰峰形良好,保留时间分别为3.438 5、14.937 5 min,理论板数均>4 000,分离度均>2.0。色谱见图1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取醋酸曲安奈德对照品12.5 mg、维A酸对照品12.4 mg,分别置于不同的50 ml棕色量瓶中,加入适量甲醇,水浴加热使溶解并用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。分别精密量取醋酸曲安奈德和维A酸对照品贮备液各10 ml,置于同一100 ml棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

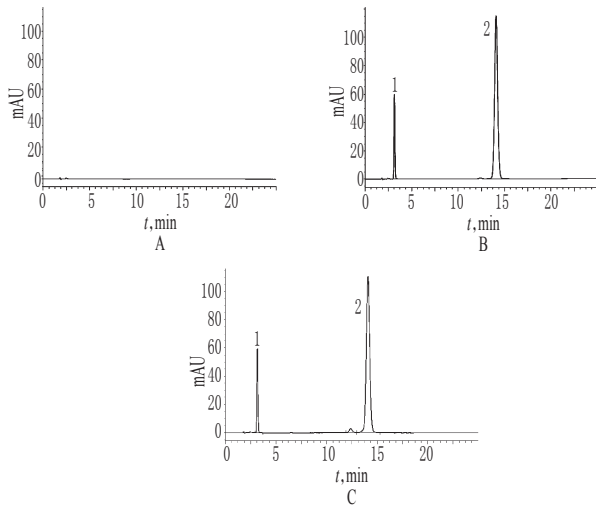


图1 高效液相色谱图

A.阴性对照;B.混合对照品;C.供试品;1.醋酸曲安奈德;2.维A酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A.negative control; B.mixed control; C.test sample; 1.triamcinolone acetate; 2.tretinoin

2.2.2 供试品溶液 取样品约2.5 g,置于100 ml量瓶中,加甲醇30 ml,水浴加热(约60 ℃)溶解,放冷,用甲醇稀释至刻度,摇匀,放入冰箱冷冻室冷冻2 h,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方工艺及配方比例制备不含醋酸曲安奈德和维A酸的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备,即得。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 ml,分别置于50 ml量瓶中,用甲醇定容,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,得醋酸曲安奈德的回归方程为 $y=14.21x-1.6548$ ($r=0.9999$),维A酸的回归方程为 $y=90.372x-35.065$ ($r=0.9998$)。结果表明,醋酸曲安奈德和维A酸的检测质量浓度线性范围分别为0.5~5、0.496~4.96 μg/ml。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,连续操作6次,记录峰面积。结果,醋酸曲安奈德和维A酸峰面积的RSD分别为0.46%、0.37%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

精密吸取同一份供试品溶液(批号:20150504)适量,分别于放置0、1、3、5、7、9、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,醋酸曲安奈德和维A酸峰面积的RSD分别为0.63%、0.76%($n=7$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:20150504)适量,共6份,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,记录峰面积并计算含量。结果,醋酸曲安奈德和维A酸含量的RSD分别为0.59%、0.79%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:20150504)适量,共6份,精密称定,分别精密加入“2.2.1”项下混合对照品溶液5 ml,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,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=6$)

待测成分	已知含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
醋酸曲安奈德	1.261 7	1.250	2.502	99.22	99.08	0.58
	1.262 6	1.250	2.496	98.67		
	1.258 6	1.250	2.509	100.03		
	1.261 4	1.250	2.491	98.37		
	1.261 1	1.250	2.497	98.87		
	1.265 7	1.250	2.507	99.30		
维A酸	1.273 3	1.245	2.496	98.21	99.29	0.78
	1.266 9	1.245	2.502	99.20		
	1.266 3	1.245	2.516	100.38		
	1.267 6	1.245	2.512	99.95		
	1.257 5	1.245	2.491	99.08		
	1.266 7	1.245	2.498	98.90		

2.8 样品含量测定

分别称取3批样品各适量,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醋酸曲安奈德和维A酸的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$, %)

Tab 2 Results of contents determination of samples($n=3$, %)

批号	醋酸曲安奈德	维A酸
20150504	101.09	100.43
20150505	99.43	98.78
20150506	100.67	100.23

3 讨论

3.1 样品溶剂和溶解温度的选择

样品所用溶剂先后考察了异丙醇、乙醇、甲醇等,结果甲醇的溶解性好,对色谱柱的损伤也较小。样品溶解温度先后考察了20、40、60、80 ℃等,结果60 ℃时样品可以溶解完全。因此,本研究选择甲醇为溶剂,60 ℃为溶解温度。

3.2 色谱条件的考察

分别取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,在210~400 nm波长范围内进行扫描,结果显示醋酸曲安奈德在254 nm波长处、维A酸在350 nm波长处有较强吸收。因此,为使图谱基线平稳,干扰少,吸收峰更强,选择254、350 nm双波长作为本试验的检测波长。

对流动相进行选择时考察了甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液4个流动相系统^[4-7]。结果,以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相,所得色谱峰形好,分离效果也较好。

对柱温进行选择时考察了15、25、35 ℃时色谱峰的分离情况。结果,三者均能使维舒膏中醋酸曲安奈德和维A酸的色谱峰达到系统适用性的要求,说明柱温对本方法影响不大。综合考虑常温等因素,最终将柱温定为25 ℃。

综上所述,本方法简便、准确、快捷,适用于维舒膏中醋酸曲安奈德和维A酸的含量测定。

参考文献

- [1] 周松. 醋酸曲安奈德尿素乳膏的制备及疗效观察[J]. 实用药物与临床, 2010, 13(3): 199.
- [2] 王栋. 维A酸类药物研究进展[C]//2010年中国药学会暨第十届中国药师周论文集. 北京: 中国药学会,

HPLC法测定注射用门冬氨酸鸟氨酸的含量和摩尔比

任连杰^{1,2*}, 张伟¹, 武晗燕¹, 高恒莹¹, 李群^{1#}(1.北京市药品检验所, 北京 100035; 2.国家食品药品监督管理总局药品审评中心, 北京 100038)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0383-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.33

摘要 目的:建立测定注射用门冬氨酸鸟氨酸含量和摩尔比的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Thermo HYPERSIL Aps-2 氨基柱,流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液,流速为 0.9 ml/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 200 nm,进样量为 20 μl。并将 HPLC 法所得结果与电位滴定法结果进行比较。结果:门冬氨酸鸟氨酸的检测质量浓度线性范围为 0.02~10.01 mg/ml($r=0.9999$);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD $<2\%$;回收率为 99.15%~100.15%,RSD=0.35%($n=9$)。3 批样品含量为 100.04%~100.64%,相对摩尔比为 0.982~0.989,含量测定结果与国家标准采用的电位滴定法测定结果相当。结论:该方法简便、准确、专属性强、灵敏度高,适用于注射用门冬氨酸鸟氨酸的含量和摩尔比测定。

关键词 注射用门冬氨酸鸟氨酸;高效液相色谱法;含量;摩尔比

Content and Molar Ratio Determination of Ornithine Aspartate for Injection by HPLC

REN Lianjie^{1,2}, ZHANG Wei¹, WU Hanyan¹, GAO Hengying¹, LI Qun¹(1.Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China; 2.Center for Drug Evaluation, CFDA, Beijing 100038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of the content and molar ratio of Ornithine aspartate for injection. METHODS: HPLC was performed on the column of Thermo HYPERSIL Aps-2 amino column with mobile phase of acetonitrile-0.05mol/L Potassium dihydrogen phosphate solution, the flow rate was 0.9 ml/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 200 nm, and the injection volume of 20 μl. The results determined by HPLC and potentiometric titration were compared. RESULTS: The linear range of ornithine aspartate was 0.02-10.01 mg/ml($r=0.9999$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 99.15%-100.15% (RSD=0.35%, $n=9$). The content of 3 batches of Ornithine aspartate for injection was 100.04%-100.64% and molar ratio was 0.982-0.989. The content is similar to the results determined by potentiometric titration with national standards. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and sensitive, and suitable for the determination of the content and molar ratio of Ornithine aspartate for injection.

KEYWORDS Ornithine aspartate for injection; HPLC; Content; Molar ratio

门冬氨酸鸟氨酸是两种氨基酸成盐形成的离子化合物,能直接参与肝细胞代谢,并能激活肝脏解毒功能中的两个关键酶,因而能够协助清除对人体有害的自由基,增强肝脏的解毒功能,恢复机体能量平衡。注射用门冬氨酸鸟氨酸在临床上适用于急、慢性肝病^[1]包括肝硬化、脂肪肝、各型病毒性和中毒性肝炎^[2]以及高血氨症,特别是因肝脏疾病所引起的中枢神经系统症状的改善及肝性脑病^[3-4]的救治。注射用门冬氨酸鸟氨酸的现行国家药品标准(试行)WS-745(X-592)-2001采用电位滴定法对其进行含量测定,但是该方法操作复杂;且目前也有采用高效液相色谱(HPLC)法^[5]或氨基酸分析仪测定法对门

冬氨酸鸟氨酸进行含量测定的报道,但这两种方法均需柱前或柱后的衍生化。因此,为了简化其含量测定方法,更好地控制注射用门冬氨酸鸟氨酸的质量提供参考,笔者采用氨基柱,建立了测定注射用门冬氨酸鸟氨酸含量和门冬氨酸与鸟氨酸摩尔比的方法。

1 材料

1.1 仪器

U3000 型 HPLC 仪,包括二极管阵列检测器(DAD)和 Chromeleon 色谱工作站(美国 Dionex 公司);BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

2010;3 825-3 830.

[3] 吴洁,毕新岭,顾军.维 A 酸在银屑病患者中的应用[J].药学服务与研究,2007,7(4):245.

[4] 王文月,刘志宏,黄爱文,等.双波长 HPLC 法测定酸性龙胆合剂中龙胆苦苷和橙皮苷的含量[J].中国药房,2015,26(9):1 241.

* 副主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:010-68921519。E-mail:bidclj@126.com

通信作者:副主任药师。研究方向:药物分析。电话:010-83223455

[5] 王承海,陈正艳,孙考祥,等.高效液相色谱法测定人血浆中帕瑞昔布和伐地昔布的浓度[J].中国新药与临床杂志,2012,31(6):304.

[6] 袁耀佐,钱文,张玫.HPLC 法同时测定复方盐酸克林霉素软膏中克林霉素和维 A 酸的含量及稳定性考察[J].中国抗生素杂志,2009,34(5):291.

[7] 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,2010:893,1 122-1 123.

(收稿日期:2015-06-28 修回日期:2015-10-26)

(编辑:刘柳)