

HPLC法同时测定水杨酸复合洗剂中苯甲酸和水杨酸的含量

郭旭光*(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)28-2667-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.28.26

摘要 目的:建立同时测定水杨酸复合洗剂中苯甲酸和水杨酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agela C₁₈,流动相为0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(冰醋酸调pH为6.0)-甲醇(75:25, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为40 ℃,进样量为10 μl。结果:苯甲酸和水杨酸的检测质量浓度分别在42.48~382.32、41.16~370.44 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$, $r=0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.78%;平均加样回收率分别为100.2%、100.6%,RSD分别为0.6%、0.5%($n=9$)。结论:该方法准确、快速,操作简便,专属性强,重复性好,可用于水杨酸复合洗剂中苯甲酸和水杨酸的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;水杨酸复合洗剂;苯甲酸;水杨酸;含量测定

Simultaneous Determination of Benzoic Acid and Salicylic Acid in Salicylic Acid Complex Lotion by HPLC GUO Xu-guang(Henan Provincial Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of benzoic acid and salicylic acid in Salicylic acid complex lotion. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agela C₁₈ column with mobile phase composed of 0.1 mol/L phosphate buffer (pH adjusted to 6.0 using glacial acetic acid)-methanol (75:25, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 270 nm, and column temperature was 40 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear ranges were 42.48-382.32 μg/ml for benzoic acid ($r=0.999\ 9$) and 41.16-370.44 μg/ml for salicylic acid ($r=0.999\ 8$). RSDs of precision, stability, repeatability test were less than 0.78%. The average recoveries were 100.2% (RSD=0.6%, $n=9$) and 100.6% (RSD=0.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: The developed method is simple, accurate, reliable and specific, and can be used for the content determination of benzoic acid and salicylic acid in Salicylic acid complex lotion.

KEYWORDS HPLC; Salicylic acid complex lotion; Benzoic acid; Salicylic acid; Content determination

本试验建立了HPLC法测定麦味地黄丸中熟地黄所含毛蕊花糖苷含量的方法,以为中成药制剂中熟地黄的质量控制提供可靠的依据。

3.2 流动相的选择

本试验先以乙腈-磷酸二氢钾为流动相,考察了其不同比例对色谱的影响,发现峰形拖尾均严重,改为在乙腈中加入0.1%醋酸溶液后峰形明显改善,提高了灵敏度和精密性。方法学验证表明,其精密性、稳定性、回收率和重复性均能满足定量分析的要求。国内目前检测毛蕊花糖苷含量的试验均存在峰拖尾和保留时间长等现象,不利于快速、准确测定。本试验采用乙腈-0.1%醋酸溶液(16:84, V/V)作为流动相,峰形对称、保留时间短、灵敏度高,可为相关制剂中毛蕊花糖苷的含量测定提供一种新方法。

3.3 检测波长的选择

本试验利用二极管阵列检测器在200~400 nm波长范围内扫描其吸收光谱,发现在334 nm波长处有最大吸收,灵敏度高、干扰较少,故以334 nm作为毛蕊花糖苷的检测波长。

综上所述,本法简便、准确、灵敏度高、重复性好,适用于测定麦味地黄丸中毛蕊花糖苷的含量。

参考文献

[1] 朱妍,徐畅.熟地黄活性成分药理作用研究进展[J].亚太

传统医药,2011,7(11):173.

- [2] 夏庆华,路千里.熟地黄药理研究进展[J].江西中医学院学报,2008,20(6):96.
- [3] 崔豪,冯静,崔瑛,等.熟地黄及其多糖中枢抑制作用研究[J].河南中医学院学报,2006,21(6):18.
- [4] 吴金环,顾红岩,喇孝瑾,等.地黄与熟地黄对糖尿病小鼠血糖血脂的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):161.
- [5] 张晓华,刘海平.麦味地黄丸治疗慢阻肺病合并肺心病30例[J].四川中医,2002,20(1):49.
- [6] 应瑞英,吕建勋.胸腺肽与麦味地黄丸治疗儿童哮喘80例[J].河南医科大学学报,2000,35(2):141.
- [7] 赵顺利.麦味地黄丸加味治疗阴虚盗汗1例[J].现代中西医结合杂志,2010,19(33):4252.
- [8] 尹明,牟娟,肖华芬,等.HPLC法测定蜜桶花颗粒中毛蕊花糖苷的含量[J].中药新药与临床药理,2008,19(6):485.
- [9] 陈天朝,翟来超.HPLC同时测定地黄中梓醇与毛蕊花糖苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):105.
- [10] 王隶书,王友联,李明洋,等.HPLC测定市售车前子中毛蕊花糖苷的含量[J].中国药师,2011,14(11):1581.

(收稿日期:2013-09-18 修回日期:2014-06-12)

*主管药师,硕士。研究方向:食品药品质量控制。电话:0371-63388290。E-mail:gxg0371@126.com

水杨酸复合洗剂具有止痒、杀菌的作用,临床用于真菌感染的手、足癣的治疗,疗效好、价格便宜。现行水杨酸复合洗剂的质量标准收载于国家药品标准新药转正标准第13册^[1],本品包装规格为粉剂包加溶液剂(瓶),粉剂包中苯甲酸和水杨酸的含量测定采用容量分析法。该法操作烦琐,重复性差,缺乏专属性。因此,笔者参考相关文献^[2-7],采用高效液相色谱(HPLC)法建立了同时测定该产品中苯甲酸和水杨酸含量的方法。

1 材料

1100型HPLC仪,包含G1314A VWD可变波长检测器、ChemStation色谱工作站(美国Agilent公司);ME235S型电子天平(德国Startorius公司)。

苯甲酸对照品、水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100419-200301、100106-201104,质量分数:100.0%、100.0%);水杨酸复合洗剂(市售,批号:130101、130102、130103);甲醇(色谱纯,德国Merck公司);其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agela C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(称取17.9 g十二水磷酸氢二钠和4.08 g磷酸二氢钾,加超纯水800 ml,用冰醋酸调pH为6.0)-甲醇(75:25, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:270 nm;柱温:40 °C;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取苯甲酸和水杨酸对照品适量,用50%甲醇溶液溶解并定量制成每1 ml中约含苯甲酸和水杨酸各0.2 mg的溶液,用0.2 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.2 供试品溶液 取水杨酸复合洗剂的粉剂包装1包,振摇1 min,取粉剂适量,精密称定,用50%甲醇溶液溶解并定量,用0.2 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 空白对照溶液 精密称取水杨酸复合洗剂粉剂包1包处方量的空白辅料适量,按“2.2.2”项下的方法制备成空白对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液适量,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,苯甲酸和水杨酸的保留时间分别约为6.5 min和9.0 min,理论板数分别为12 359和13 108,分离度为9.3;辅料不干扰苯甲酸和水杨酸的含量测定。

2.4 线性关系考察

精密称取苯甲酸和水杨酸对照品21.24 mg和20.58 mg,置于同一50 ml量瓶中,加50%甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,作为标准贮备液。精密吸取标准贮备液1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 ml,分别置于10 ml量瓶中,加50%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以待测成分的检测质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得苯甲酸和水杨酸的回归方程 $y=2\ 718x+3.42$ ($r=0.999\ 9$)和 $y=3\ 509.4x+6.042$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,苯甲酸和水杨酸的检测质量浓度分别在42.48~382.32、41.16~370.44 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

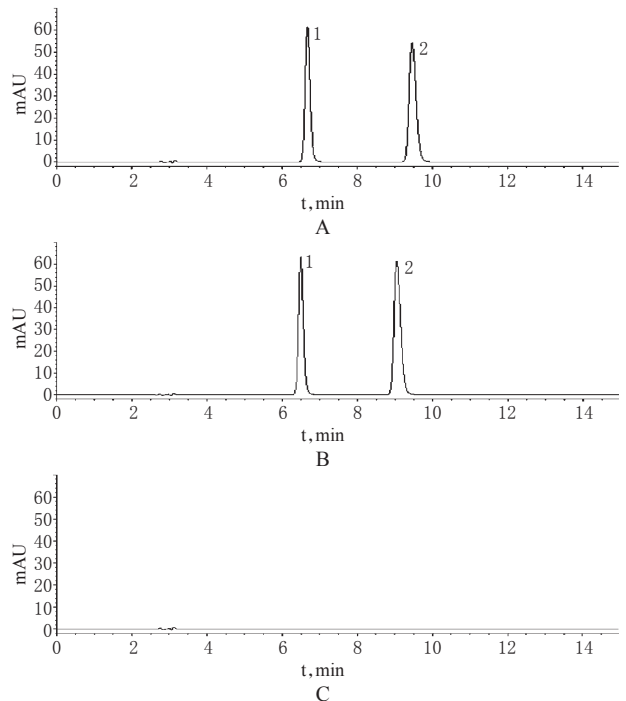


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.空白对照;1.苯甲酸;2.水杨酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. test samples; C. blank excipients; 1. benzoic acid; 2. salicylic acid

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液10 μl,按照“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,苯甲酸和水杨酸峰面积的RSD分别为0.36%和0.29%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液(批号:130101),分别在放置0、2、6、8、12、24 h时取适量注入HPLC仪,记录峰面积。结果,苯甲酸和水杨酸峰面积的RSD分别为0.44%和0.61%,表明供试品溶液在24 h内质量稳定。

2.7 重复性试验

取水杨酸复合洗剂(批号:130101)适量,按“2.2.2”项下方法制备6份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样,记录峰面积,按外标法以峰面积计算含量。结果,含苯甲酸和水杨酸的量的平均值分别为5.05 g和4.91 g,RSD分别为0.53%和0.78%,表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知苯甲酸、水杨酸含量的样品(批号:130101)和苯甲酸、水杨酸对照品适量,配制高、中、低质量浓度的溶液各3份,共9份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

2.9 样品含量测定

取样品3批,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峰面积,按外标法计算含量,同时与国家药品标准^[1]所采用的容量分析法测定结果进行比较。结果,两种方法测定含量基本一致,详见表2。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

成分	所含量, 加入量, 测得量, 加样回收率, 平均加样回收率, RSD,					
	mg	mg	mg	%	%	%
苯甲酸	7.91	8.83	16.81	100.79		
	8.08	8.17	16.26	100.12		
	8.77	7.87	16.61	99.62		
	10.25	10.19	20.41	99.71		
	11.03	10.25	21.31	100.29	100.2	0.6
	10.52	10.18	20.62	99.21		
	12.09	12.11	24.31	100.91		
	12.13	12.27	24.46	100.49		
	12.01	12.49	24.61	100.88		
	水杨酸	8.48	7.61	16.12	100.39	
8.11		8.62	16.76	100.35		
7.84		7.92	15.84	101.01		
10.90		10.31	21.23	100.19		
10.28		10.33	20.58	99.71	100.6	0.5
10.06		10.17	20.29	100.59		
12.37		12.82	25.31	100.94		
12.02		12.15	24.36	101.56		
12.33		12.71	25.16	100.94		

表2 两种方法样品含量测定结果比较(n=3)

Tab 2 Comparison of results of content determination by two kinds of methods(n=3)

批号	HPLC法, g/包		容量分析法, g/包	
	苯甲酸	水杨酸	苯甲酸	水杨酸
130101	5.05	4.91	5.03	4.93
130102	5.01	5.04	5.02	5.01
130103	4.97	5.08	4.94	5.03

3 讨论

3.1 检测波长的选择

笔者采用二极管阵列检测器对供试品溶液色谱图中的苯甲酸峰和水杨酸峰的最大紫外吸收进行测定。结果发现,苯甲酸在229 nm和270 nm波长处有最大吸收,水杨酸在232 nm和299 nm波长处有最大吸收,并且在270 nm波长处苯甲酸和水杨酸的吸收度均较大。同时,笔者参考了《日本药典》记载的复方水杨酸酯剂和复方水杨酸溶液^[2],发现其测定苯甲酸和水杨酸的检测波长亦为270 nm,故最终本研究选择270 nm为检测波长。

3.2 流动相的选择

笔者考察了多种流动相组合:(1)0.3%冰醋酸水溶液(用三乙胺调pH为7.0)-甲醇(75:25, V/V);(2)0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(称取17.9 g 十二水磷酸氢二钠和4.08 g 磷酸二氢钾,加

超纯水800 ml,加三乙胺2 ml,用稀磷酸调pH为7.0)-甲醇(75:25, V/V);(3)0.1 mol/L磷酸盐缓冲液[称取17.9 g 十二水磷酸氢二钠至500 ml超纯水中(A),称取6.8 g 磷酸二氢钾至500 ml超纯水中(B),将B加入A中(大约A:B=2:1, V/V)至pH为7.0]-甲醇(75:25, V/V);(4)0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(称取17.9 g 十二水磷酸氢二钠和4.08 g 磷酸二氢钾,加超纯水800 ml,用冰醋酸调pH值为6.0)-甲醇(75:25, V/V)。结果发现,采用4种流动相的色谱图中苯甲酸和水杨酸的分离度都大于5.0,分离效果均较好,但前3种流动相对应的色谱图中苯甲酸峰和水杨酸峰有明显的拖尾,流动相(2)中加入三乙胺对峰拖尾现象改变也不明显;同时,发现流动相的pH对水杨酸峰和苯甲酸峰拖尾因子影响较大,pH为6.0时水杨酸和苯甲酸的拖尾因子最理想,峰形对称尖锐。因此,最终确定流动相系统(4)作为本研究的流动相。

水杨酸复合洗剂由粉剂包和溶液剂(瓶)组成,粉剂中含有苯甲酸、水杨酸和硼酸,溶液剂(瓶)为乳酸,由于苯甲酸和水杨酸有紫外吸收,而硼酸和乳酸无紫外吸收,故笔者仅建立了同时测定苯甲酸和水杨酸含量的HPLC法,而硼酸和乳酸仍采用容量分析法。综上所述,本方法准确、快速,操作简便,专属性强,重复性好,可用于水杨酸复合洗剂中苯甲酸和水杨酸的含量测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.国家药品标准新药转正标准13册:水杨酸复合洗剂转正质量标准[S].北京:化学工业出版社,1998:74.
- [2] 日本公定书协会.日本药局方[S].16版.东京:株式会社,2011:655,877.
- [3] 余小平,舒金富,黄华,等.HPLC法同时测定华佗膏中水杨酸苯甲酸的含量[J].中国药品标准,2010,11(5):375.
- [4] 李焕宇,邓朝晖.RP-HPLC法测定含碘复方苯甲醇溶液中苯甲酸和水杨酸的含量[J].解放军药学报,2013,29(3):247.
- [5] 李爱华,申斌.RP-HPLC法同时测定复方阿司匹林搽剂中三组分的含量[J].中国药品标准,2012,13(6):436.
- [6] 黄洁,李锋武,刘鹏鸣,等.反相高效液相色谱法测定复方水杨酸酊中水杨酸和苯甲酸含量[J].中国药业,2012,21(20):39.
- [7] 黄华,田海,陈思瀚,等.高效液相色谱法同时测定复方紫荆皮水杨酸溶液中水杨酸苯甲酸含量[J].中华中医药学刊,2012,30(11):2562.

(收稿日期:2013-11-06 修回日期:2014-05-08)

国家卫生和计划生育委员会副主任孙志刚一行赴甘肃调研

本刊讯 2014年6月19日,国家卫生和计划生育委员会副主任、国务院医改办主任孙志刚一行赴甘肃调研,实地考察了甘肃省人民医院、兰州大学第一医院和甘肃省第二人民医院,与医务人员和患者进行了深入交流,并听取了甘肃省卫生计生工作汇报。

孙志刚充分肯定了甘肃省卫生计生工作,认为甘肃省医改工作抓得实,公立医院监管有力,中医特色突出,在破解群众看病难、看病贵问题上取得了良好效果。尤其是省人民医院的远程医疗会诊、兰州大学第一医院的生殖医学专科和甘

肃省第二人民医院的中医传统治疗与康复等都有鲜明特色,在解决群众看病就医方面成效明显。他强调,2014年是深化医改的重要一年,一定要贯彻落实好医改各项政策,将医改五项重点工作任务不断向前推进。他要求要研究远程医疗首诊负责制,并进一步加大对卫生信息化的宣传力度,利用信息化手段将群众留在基层,降低群众就医成本。

孙志刚一行还现场考察了中国科学院兰州近代物理研究所研发的重离子治疗系统,并要求尽快将科研成果转化为临床服务,惠及人民群众。