

高效液相色谱法测定氯霉素氢化可的松滴耳液中氯霉素和氢化可的松的含量

金克宁(南昌铁路中心医院,南昌 330003)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定氯霉素氢化可的松滴耳液中氯霉素和氢化可的松的含量。方法 采用反相 μ Bondpak C_{18} 色谱柱;甲醇-水(70:30)为流动相;检测波长为 242 nm,外标法定量。结果 氯霉素和氢化可的松的线性范围分别为 5 ~ 30 μ g/mL ($r=0.9995$), 1 ~ 6 μ g/mL ($r=0.9997$);平均加样回收率分别为:100.2% ($RSD=0.75\%$), 99.53% ($RSD=0.97\%$, $n=5$);日内 RSD 分别为 0.67% 和 0.66% ($n=5$), 日间 RSD 分别为 0.74% 和 1.07% ($n=4$)。结论 该方法简便、准确,适合该制剂质量检验分析。

关键词:氯霉素;氢化可的松;滴耳液;高效液相色谱

中图分类号:R917.01;R927.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2003)06-0507-02

Determination of chloramphenicol and hydrocortisone in ear drops by HPLC

JIN Ke-ning(Nanchang Central Hospital of Railway, Nanchang 330003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC method for determination of chloramphenicol and hydrocortisone in ear drops. **METHOD** μ Bondpak C_{18} column was used as the stationary phase and methanol-water(70:30) as mobile phase, the detective wavelength was 242 nm, the contents were calculated by external standard method. **RESULTS** The linear ranges of chloramphenicol and hydrocortisone were 5 ~ 30 μ g/mL ($r=0.9995$) and 1 ~ 6 μ g/mL ($r=0.9997$), respectively; the average recoverys were 100.2% ($RSD=0.75\%$) and 99.53% ($RSD=0.97\%$, $n=5$); the RSD of intra-day were 0.67% and 0.66% ($n=5$); the RSD of inter-day were 0.74% and 1.07% ($n=4$). **CONCLUSION** This method is simple and accurate, which can be used for the quality control of this preparation.

KEY WORDS: chloramphenicol; hydrocortisone; ear drops; HPLC

氯霉素氢化可的松滴耳液为中国医院制剂规范第二版载的制剂^[1],由氯霉素、氢化可的松、乙醇、聚乙二醇、丙二醇等组成的滴耳剂,具有抗炎、抗过敏作用,临床上用于中耳炎治疗。有关氯霉素和氢化可的松的含量测定方法主要有紫外光谱法^[1]、高效液相色谱法^[2,3]、卡尔曼分光光度法^[4]等,对于该制剂,规范中仅规定了用紫外分光光度法测定氯霉素的含量,而没有氢化可的松的含量测定方法。本实验建立了反相高效液相色谱法,同时测定以上两种成份,方法简便,结果准确,重现性好。

1 仪器与试剂

美国 Waters HPLC 系统:510 泵,486 紫外检测器,U6K 进样阀;中科院大连化学物理研究所提供的 DL-800 色谱工作站;日本岛津公司的 160A 型紫外分光光度仪。氯霉素对照品(99.4%,上海第六制药厂 010135),氢化可的松对照品(99.6%,湖北制药厂 010716M),乙醇、聚乙二醇、丙二醇均为药用规格,甲醇为色谱醇,水为重蒸馏水。氯霉素氢化可的松滴耳液为本院自制。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱: μ Bondpak C_{18} 柱(10 μ ,3.9 mm \times 300 mm);流动相:甲醇-水(70:30);柱温:室温;检测波长:242 nm;流速:0.

9 mL/min;进样量:8 μ L。

2.2 系统性试验

按上述色谱条件,分离色谱图见图 1。氯霉素保留时间为 3.90 min,理论塔板数为 2 805;氢化可的松保留时间为 5.13 min,理论塔板数为 3 085。氯霉素与氢化可的松的分离度为 3.11。

2.3 线性关系

精密称取氯霉素对照品 50 mg,氢化可的松 10 mg,分别置 100 mL 量瓶中,用流动相稀释并定容,得贮备液。分别精密量取氯霉素和氢化可的松贮备液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL 置 50 mL 量瓶中,加入流动相稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件,依次进样 8 μ L,测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,氯霉素及氢化可的松浓度为横坐标,分别进行线性回归。处理结果:氯霉素浓度在 5 ~ 30 μ g/mL 内线性关系良好,回归方程为: $A = 5.1448 C - 4.308$, $r = 0.9995$;氢化可的松浓度在 1 ~ 6 μ g/mL 范围内线性关系良好,回归方程为: $A = 19.907 C - 2.2806$, $r = 0.9997$ 。

2.4 加样回收率

精密量取已知浓度的氯霉素氢化可的松滴耳液样品 0.5,1,1.5 mL,分别置 50 mL 量瓶中,再分别精密加入贮备液 0.5,1,1.5 mL,用流动相稀释至刻度,摇匀,平行配制 5 份,

按上述色谱条件,进行回收率测定,结果见表1。

2.5 精密度试验

以流动相精密配制含氯霉素 $15\mu\text{g}/\text{mL}$,氢化可的松 $3\mu\text{g}/\text{mL}$ 供试液,分别按上述色谱条件,间隔1h,重复进样5次,结果氯霉素的 $RSD=0.67\%$,氢化可的松的 $RSD=0.66\%$;上述供试液隔日进样1次,连续4d。测定结果,氯霉素的 $RSD=0.74\%$,氢化可的松的 $RSD=1.07\%$ 。

表1 氯霉素和氢化可的松加样回收率测定结果($n=5$)

Tab 1 Recovery of chloramphenicol and hydrocortisone in the ear drops($n=5$)

药物	样品本含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加入量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	平均测定量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	平均回收率 (%)
氯霉素	4.97	5.08	10.09	100.4
	9.94	10.16	20.22	100.6
	14.91	15.27	30.04	99.53
总平均回收率	100.2%	$RSD=0.75\%$		
氢化可的松	1.05	1.03	2.07	99.43
	2.10	2.06	4.14	99.43
	3.15	3.09	6.22	99.72
总平均回收率	99.53%	$RSD=0.97\%$		

2.6 干扰性试验

按处方比例配制不含氯霉素和氢化可的松的空白样品,并按样品分析方法稀释并测定,结果不影响氯霉素和氢化可的松的测定,见图1。

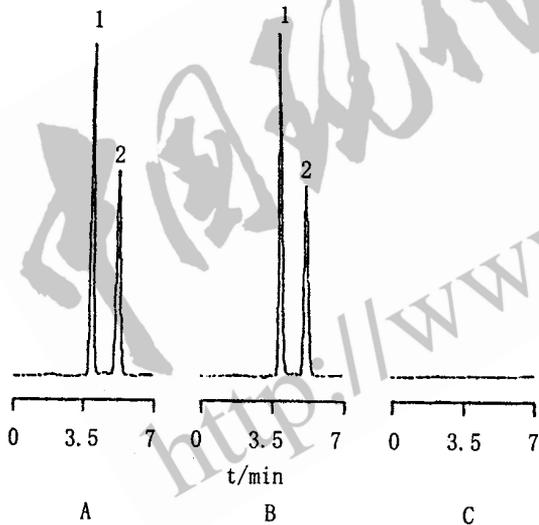


图1 对照品(A)、样品(B)、空白样品(C)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance(A), sample(B) and blank(C)

1. 氯霉素($t_R=3.90\text{ min}$); 2. 氢化可的松($t_R=5.13\text{ min}$)

1. chloramphenicol ($t_R=3.90\text{ min}$); 2. hydrocortisone($t_R=5.13\text{ min}$)

2.7 样品测定

取不同批号的待测样品2份,分别精密量取1mL置50mL量瓶中,加流动相定容,再精密量取1mL置25mL量瓶中,加流动相至刻度,每样5份,按上述色谱条件测定,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=5$)

Tab 2 Contents of chloramphenicol and hydrocortisone in samples($n=5$)

批号	氯霉素		氢化可的松	
	标示量(%)	RSD(%)	标示量(%)	RSD(%)
000320-1	100.3	0.58	99.82	0.30
000320-2	100.9	0.39	100.5	0.73

3 讨论

3.1 流动相的选择

选择不同比例的甲醇-水作流动相,可见氯霉素和氢化可的松的保留时间随甲醇比例的增大而减小,氢化可的松的保留时间受甲醇比例的影响更大,当甲醇的比例从55%增大到70%时,氯霉素的保留时间从7.30min减小到3.90min,而氢化可的松的保留时间从15.42min减小到5.13min;用冰醋酸调流动相pH值,发现pH值在6.5~3.0范围内并不影响被测物的色谱行为。当甲醇与水的比例调整到70:30,流速为0.9mL/min时,被测物保留时间适当,分离度较好,峰形好,系统稳定。

3.2 检测波长的选择

将适当浓度的氯霉素和氢化可的松溶液在200~400nm波长内进行紫外扫描,发现氯霉素在278nm处有最大吸收,氢化可的松在242nm处有最大吸收,考虑到制剂处方中,氢化可的松的量仅为氯霉素量的1/5,选择242nm为测定波长,在此波长下检测完全满足测定要求。

参考文献

- [1] 中国医院制剂规范[M]. 第二版. 1995:158.
- [2] 叶云,杨艳,肖顺林,等. HPLC法测定复方氯霉素栓中氯霉素含量[J]. 药物分析杂志,1998,18(4):269.
- [3] 中国药典.2000年二部[S]. 2000:480.
- [4] 金克宁,张本全,汤伟. 卡尔曼滤波分光光度法测定复方氯霉素滴耳液中两组份的含量[J]. 中国医院药学杂志,1996,16(5):210.

收稿日期:2002-12-16