

# 反相高效液相色谱法测定复方阿昔洛韦滴眼剂中主要成分含量

赵环宇, 李嘉静(北京同仁医院, 北京 100730)

**摘要:**目的 测定复方阿昔洛韦滴眼剂中阿昔洛韦和盐酸环胞苷的含量。方法 采用高效液相色谱法,以 YWG-C<sub>18</sub>柱 250 mm × 4.6 mm 为色谱柱,甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(100:400:0.1:0.014)为流动相,检测波长 262 nm,峰面积外标法定量。结果 平均回收率:阿昔洛韦为 101.2%, RSD=1.11% (n=6);盐酸环胞苷为 99.8%, RSD=1.12% (n=6)。结论 方法简便、快速、准确可靠,适于该制剂的含量测定。

**关键词:** 高效液相色谱法;阿昔洛韦;盐酸环胞苷

中图分类号: R917.01; R927.2

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2003)06-0509-02

## Determination of compound acyclovir eye drops by RP HPLC

ZHAO Huan-yu, LI Jia-jing( Beijing Tongren Hospital, Beijing 100730, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To determine the content of acyclovir and cycloctidine hydrochloride in compound acyclovir eye drops.

**METHOD** HPLC method was adopted with YWG-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm) as analytical column, methanol-water-acetic acid-triethylamine (100:400:0.1:0.014) as the mobile phase, detection wavelength of 262 nm and external standard method. **RESULTS** The average recoveries were 101.2% for acyclovir and 99.8% for cycloctidine hydrochloride with the RSD 1.11% and 1.12%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, reliable and suitable for assay of the preparation.

**KEY WORDS:** HPLC; acyclovir; cycloctidine hydrochloride

复方阿昔洛韦滴眼剂(ACF)是我院研制的一种用于治疗病毒性角膜炎的眼用制剂。主要成分为阿昔洛韦(Acyclovir)、盐酸环胞苷(Cycloctidine Hydrochloride)和地塞米松等。上述三种成分均有紫外吸收,但互相干扰。本实验采用高效液相反相色谱系统,外标法成功地分离测定了 ACF 中阿昔洛韦和盐酸环胞苷的含量,方法简便、快速、结果准确。

### 1 仪器与试剂

检定所,盐酸环胞苷(上海第十二制药厂),地塞米松(法国 Roussel Uclaf 药厂),ACF 滴眼剂(北京同仁医院制剂室),甲醇(色谱纯),三乙胺、冰醋酸均为分析纯,水为重蒸水。

### 2 色谱条件与色谱图

色谱柱(YWG-C<sub>18</sub>柱 250 mm × 4.6 mm,粒度 10 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(100:400:0.1:0.014);流速:1.5 mL/min;检测波长:262 nm;室温下操作;理论塔板数按阿昔洛韦计算不得小于 2000。

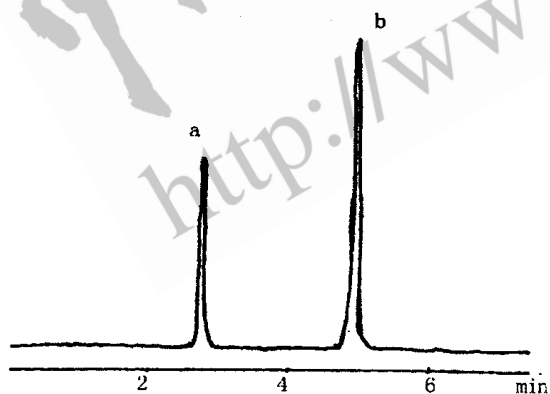


图 1 对照品溶液 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatogram of reference solution

a. 盐酸环胞苷; b. 阿昔洛韦

a. cycloctidine hydrochloride; b. acyclovir

Waters510 型高压泵, U6k 进样阀, Waters486 检测器, Waters740 数据处理器;阿昔洛韦对照品(中国药品生物制品

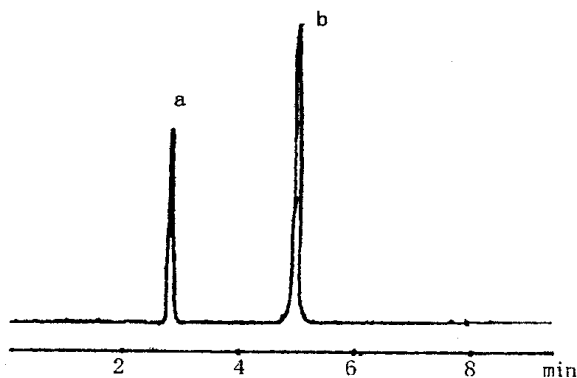


图 2 样品溶液 HPLC 图谱

Fig 2 HPLC chromatogram of sample

a. 盐酸环胞苷; b. 阿昔洛韦

a. cycloctidine hydrochloride; b. acyclovir

### 3 实验方法

作者简介:赵环宇,女,31岁。1992年毕业于北京医科大学药学院。主管药师

3.1 线性关系考察

精密称取阿昔洛韦对照品约 70 mg,置小烧杯中,加适量水,水浴加热溶解,转移入 50 mL 量瓶中,再精密称取盐酸环胞苷对照品约 35 mg,用水溶解后转移入上述量瓶中,水稀释至刻度,制成储备液。依次精密吸取储备液 25,50,75,100,150,200,250μL,分别置于 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,配成一系列浓度对照溶液。在上述色谱条件下分别进样 5μL,以浓度 C 对峰面积 A 进行线性回归,得回归方程

阿昔洛韦:  $A_{阿} = 1.60 \times 10^5 C_{阿} - 4.41 \times 10^4$ ,  $r_{阿} = 0.999\ 9$ ,线性范围为 3.5 ~ 35μg/ mL

盐酸环胞苷:  $A_{环} = 1.22 \times 10^5 C_{环} - 2.78 \times 10^4$ ,  $r_{环} = 0.999\ 8$ ,线性范围为 1.8 ~ 18μg/ mL

结果表明,在上述溶度范围内测定,阿昔洛韦与盐酸环胞苷线性关系良好。

3.2 空白试验

按照处方比例,取阿昔洛韦在盐酸环胞苷外的全部原、辅料适量,配置空白溶液,精密吸取 1 mL 置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,进样 5μL,记录 20 min 内色谱图。无峰出现,表明地塞米松和其它辅料对测定均无干扰。

3.3 日内差、日间差试验

取 ACF 滴眼剂,精密吸取 1 mL 置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密进样 5μL。1 d 进样 5 次,测得阿昔洛韦与盐酸环胞苷的日内 RSD 分别为 0.78 %和 1.26 %;将此溶液每日测定 1 次,共测定 5 d,计算得阿昔洛韦和盐酸环胞苷的日间 RSD 分别为 0.92 %和 3.77 %。

表 1 回收率测定结果( n = 3)

| Tab 1 Results of recovery test |              |             |             |              |             |             |
|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| 编号                             | 阿昔洛韦/ %      |             |             | 盐酸环胞苷/ %     |             |             |
|                                | 加药量<br>( mg) | 回收率<br>( %) | RSD<br>( %) | 加药量<br>( mg) | 回收率<br>( %) | RSD<br>( %) |
| 1                              | 61.2         | 101.7       | 0.93        | 29.5         | 98.9        | 1.06        |
| 2                              | 58.9         | 102.4       | 1.22        | 32.4         | 101.5       | 1.28        |
| 3                              | 47.3         | 98.9        | 1.11        | 23.9         | 98.6        | 1.24        |
| 4                              | 48.8         | 102.8       | 1.37        | 24.6         | 99.7        | 1.01        |
| 5                              | 71.9         | 99.6        | 0.95        | 35.8         | 100.7       | 0.98        |
| 6                              | 72.2         | 101.5       | 1.06        | 36.7         | 99.1        | 1.16        |
| 平均值                            | 101.2        |             | 1.11        |              | 99.8        | 1.12        |

3.4 回收率试验

按照处方比例精密称取阿昔洛韦、盐酸环胞苷、地塞米松及辅料适量配置 6 份模拟样品。精密吸取 1 mL 样品置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密进样 5μL。外标法计算主药含量、回收率。结果见表 1

3.5 样品测定

取不同批次 ACF 滴眼剂,精密吸取 1 mL 置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密进样 5μL。外标法计算其含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

| Tab 2 Results of sample determination |             |             |             |             |
|---------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 批号                                    | 阿昔洛韦        |             | 盐酸环胞苷       |             |
|                                       | 标示量<br>( %) | RSD<br>( %) | 标示量<br>( %) | RSD<br>( %) |
| 20010618                              | 99.7        | 0.84        | 100.6       | 0.67        |
| 20011112                              | 101.2       | 0.57        | 104.3       | 1.01        |
| 20020128                              | 102.1       | 0.75        | 105.9       | 0.94        |

4 讨论

4.1 波长的选择

经扫描紫外吸收图谱,阿昔洛韦、盐酸环胞苷以流动相作溶剂在中在 240 ~ 270 nm 均有较大吸收,阿昔洛韦最大吸收波长在 252 nm 处,盐酸环胞苷最大吸收波长分别在 251 nm 和 262 nm 处。因处方中阿昔洛韦与盐酸环胞苷比例为 2: 1,为提高盐酸环胞苷检测灵敏度,选择含量小的盐酸环胞苷的最大吸收波长 262 nm 作为检测波长。

4.2 流动相的选择

阿昔洛韦和盐酸环胞苷均为极性较强的化合物,实验中以不同比例的甲醇-水作流动相,发现水的比例加大时,两者可实现部分分离;降低流动相 pH 值,对阿昔洛韦影响不大,而盐酸环胞苷保留时间加大,可实现两者的完全分离。本实验条件下,阿昔洛韦和盐酸环胞苷分别在 2.82 min 和 4.99 min 出峰,峰形窄而尖锐,分离效果理想。

4.3 阿昔洛韦和盐酸环胞苷含有碱性基团, C<sub>18</sub> 柱上残留的硅醇基对碱性物质色谱行为有严重影响,故引起色谱峰展宽并产生拖尾,在流动相中添加抑制和掩蔽固定相表面硅醇基活性物质,消除上述不良影响。本实验采用 C<sub>18</sub> 柱,以甲醇-水作流动相,并加入少量扫尾剂三乙胺。