

高效液相色谱法同时测定复方确炎舒松霜中氯霉素和曲安奈德含量

余自成, 张芳华, 刘侃, 蔡卫民(上海第二医科大学瑞金医院药剂科, 上海 200025)

摘要:目的 建立复方确炎舒松霜中氯霉素和曲安奈德(确炎舒松)含量测定方法, 用于制剂质量控制。方法 利用高效液相色谱法, 优化色谱条件进行测定, 色谱柱 μ Bondapak C₁₈ (10 μ m, 3.9 $\times$ 300mm), 流动相为甲醇-0.025 mol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸二氢钠 (65:35), 检测波长 240nm, 流速 1.2 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温 45 $^{\circ}$ C, 灵敏度 0.02 AUFS。结果 测定氯霉素的线性范围为 200.0 ~ 500.0 mg $\cdot$ L⁻¹, 平均回收率为 103.1% (RSD 0.63 ~ 1.48%); 测定确炎舒松的线性范围为 15.0 ~ 75.0 mg $\cdot$ L⁻¹, 平均回收率为 98.9% (RSD 0.77 ~ 1.75%)。结论 本方法简便、准确, 适合于复方确炎舒松霜的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 霜剂; 氯霉素; 曲安奈德

中图分类号: R917.795.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)06-0485-03

Determination of chloramphenicol and triamcinolone acetoneide in compound triamcinolone cream by HPLC

YU Zi-cheng, ZHANG Fang-hua, LIU Kan, CAI Wei-min (*Institute of Clinical Pharmacology, Ruijin Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of chloramphenicol and triamcinolone acetoneide in compound triamcinolone cream. **METHODS** A reversed-phase HPLC method was developed, determination was performed on μ Bondapak C₁₈ column (10 μ m, 3.9 $\times$ 300mm) with methanol-0.025 mol $\cdot$ L⁻¹ NaH₂PO₄ (65:35) as the mobil phase, the flow rate was 1.2 mL $\cdot$ min⁻¹, wavelength of detection was 240nm, column temperature was set at 45 $^{\circ}$ C. **RESULTS** The linear range were 200.0 ~ 500.0 mg $\cdot$ L⁻¹ and 15.0 ~ 75.0 mg $\cdot$ L⁻¹, the average recovery were 103.1 % and 98.9% for chloramphenicol and triamcinolone acetoneide, respectively. **CONCLUSION** This method is simple and accurate, it can be used for the quality control of compound triamcinolone cream.

KEY WORDS: HPLC; cream; chloramphenicol; triamcinolone acetoneide

复方确炎舒松霜为我院自制制剂, 该制剂是由曲安奈德(确炎舒松)、氯霉素与霜剂基质混匀制成的复方制剂, 具有

抗菌、抗炎、止痒作用, 临床上用于神经性皮炎、接触性皮炎和慢性湿疹等皮肤疾病的治疗具有显著疗效。笔者建立了

作者简介: 余自成, 男, 副主任药师, Tel: 021-64370045-663208; E-mail: yzcheng66@hotmail.com

一种简便、准确的 HPLC 方法用于确炎舒松霜的质量控制,方法研究结果报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪,包括 510 型双泵,486 型紫外检测器,PCM, TCM, Millinnium 2010 色谱管理系统(美国 Waters 公司)。MA110 型电子分析天平(上海第二天平仪器厂),UV-2401PC 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司),CQ50 型超声波清洗器(上海超声波仪器厂)。

1.2 试剂

氯霉素、确炎舒松对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0309231);甲醇(色谱纯,上海陆都化学试剂厂);其他试剂均为分析纯。确炎舒松霜 3 批(批号:200400301,20040309,20040329)及不含氯霉素和确炎舒松的空白基质均由我院制剂室制备。

1.3 处方与制备方法

1.3.1 处方 氯霉素、确炎舒松、十六醇、单甘酯、液状石蜡、甘油、十二烷基硫酸钠、对羟基苯甲酸乙酯适量,纯水加

至 1000g。

1.3.2 制备方法 称取处方量十六醇、单甘酯、液状石蜡并将其加热熔化,保温于 70 ~ 80℃(油相);另称取处方量十二烷基硫酸钠、甘油并将其加入纯水中,加热至 70 ~ 80℃(水相);将熔化的油相缓慢加入水相并不断搅拌乳化,使之冷却;最后将确炎舒松、氯霉素和对羟基苯甲酸乙酯加入少量乙醇中加热溶解,待基质冷却至 50℃左右,将含药的乙醇溶液加入并充分搅匀,冷却凝固后分装即得。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性

色谱柱 μ Bondapak C₁₈(10 μ m, 3.9mm $\times$ 300mm), 流动相为甲醇 - 0.025mol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸二氢钠(65:35),检测波长 240nm,流速 1.2mL $\cdot$ min⁻¹,柱温 45℃,灵敏度 0.02AUFS。在此色谱条件下氯霉素和确炎舒松的色谱峰形良好,保留时间分别为 3.05 和 8.95min,空白基质按样品测定方法处理后进样测定,其色谱峰保留时间在 4.05 min,对氯霉素和确炎舒松测定均不产生干扰。在此色谱条件下测定的色谱图见图 1。

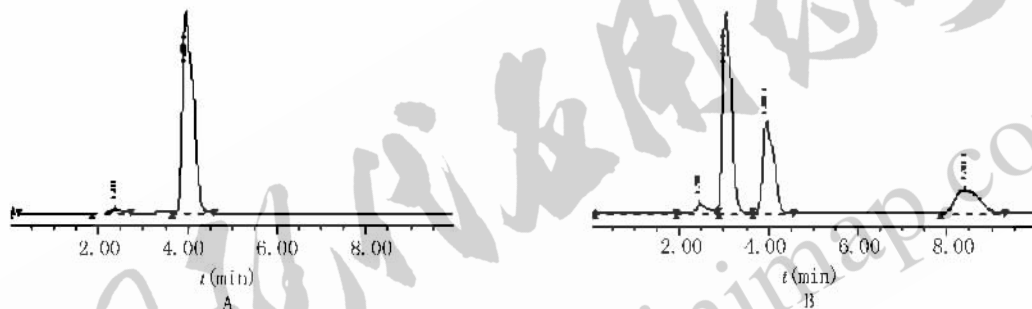


图 1 样品测定的色谱图

Fig 1 Chromatograms of sample

A. 空白基质;B. 样品(1. 氯霉素;2. 杂质峰;3. 确炎舒松)

A. Matrix without chloramphenicol and triamcinolone acetate; B. sample (1. chloramphenicol; 2. impurities; 3. triamcinolone acetate)

2.2 标准曲线

精密称取氯霉素 50.0mg 和确炎舒松对照品 15.0mg, 分别置于 50mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成对照品贮备液。然后分别准确量取对照品贮备液适量,置于 10 mL 量瓶中加入甲醇稀释定容,摇匀,制成一系列不同浓度的标准溶液,各取 20 μ L 进样测定,以浓度(C)对色谱峰面积(A)进行线性回归,结果表明,氯霉素浓度在 200.0 ~ 500.0mg $\cdot$ L⁻¹ 范围内,浓度与色谱峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $C = 139.8359 + 2.0119 \times 10^{-3}A$ ($r = 0.99997, n = 6$);确炎舒松浓度在 15.0 ~ 75.0 mg $\cdot$ L⁻¹ 内,浓度与色谱峰面积呈良好线性关系,回归方程为 $C = 6.5777 + 6.9087 \times 10^{-4}A$ ($r = 0.99978, n = 6$)。

2.3 稳定性试验

将同一对照品溶液在室温下放置 0,2,4,6,8,16,14h,另在 -4℃ 冰箱中放置 1 和 3d,在相同的色谱条件下进样测定,重复进样 5 次,测得氯霉素峰面积 RSD < 2.08%,表明氯霉素在室温放置 24h, -4℃ 冰箱中放置 3d 内测定结果稳定。

2.4 方法重复性考察

按“2.6”项下方法,对同一批号样品分别取样平行测定 5 次,测得氯霉素含量 RSD = 1.86%,确炎舒松含量 RSD = 2.15%,表明方法重复性较好。

2.5 回收率试验

精密称取不同量的氯霉素和确炎舒松对照品,置于 50mL 量瓶中,分别加入相应量的空白基质,再加入甲醇适量以超声波分散,然后置 80℃ 水浴中振摇 2min 使其溶解,取出放冷至室温,加入甲醇至刻度,摇匀,过滤,精密吸取续滤液 20 μ L 进样测定,以测得量与加入量的比值计算回收率,结果见表 1。

2.6 样品测定

取样品约 2g(约相当于氯霉素 20mg,确炎舒松 3.0mg),精密称定,置于 50mL 量瓶中,加入甲醇约 30mL 后以超声波分散,然后置 80℃ 水浴中振摇 2min 使其溶解,取出放冷至室温,加入甲醇至刻度,摇匀,过滤,将续滤液作为供试品溶液。另外精密称取氯霉素对照品 20mg 和确炎舒松对照品 3.0mg,分别置于 50mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容,配制成浓度分别为 400mg $\cdot$ L⁻¹ 和 60mg $\cdot$ L⁻¹ 的标准溶液,作为对照品溶

液,精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 20 μ L 进样测定峰面积,以外标法计算样品中氯霉素和确炎舒松含量及标示量,3 批样品测定结果见表 2。

表 1 回收率测定结果($n=5$)

Tab 1 Recoveries of determination($n=5$)

测定组分	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
氯霉素	16.1	16.32 $\pm$ 0.24	101.4 $\pm$ 1.50		1.48
	20.1	21.08 $\pm$ 0.39	104.9 $\pm$ 1.94	103.07	1.85
	24.2	24.91 $\pm$ 0.16	102.9 $\pm$ 0.64		0.63
确炎舒松	2.4	2.43 $\pm$ 0.023	101.3 $\pm$ 2.28		0.94
	3.0	2.95 $\pm$ 0.023	98.27 $\pm$ 0.76	98.86	0.77
	3.6	3.49 $\pm$ 0.061	97.0 $\pm$ 1.69		1.75

表 2 样品测定结果($n=4$)

Tab 2 Results of determination($n=4$)

测定组分	样品批号	组分含量(mg)/g	组分标示量/%	RSD/%
氯霉素	20040301	10.11 $\pm$ 0.339	101.1 $\pm$ 3.39	3.36
	20040309	10.39 $\pm$ 0.466	103.9 $\pm$ 4.66	4.48
	20040329	10.54 $\pm$ 0.230	105.4 $\pm$ 2.30	2.18
确炎舒松	20040301	1.414 $\pm$ 0.048	94.3 $\pm$ 3.21	3.40
	20040309	1.453 $\pm$ 1.026	96.9 $\pm$ 1.72	1.78
	20040329	1.574 $\pm$ 0.023	104.9 $\pm$ 1.54	1.47

3 讨论

3.1 检测波长的选择

将氯霉素和确炎舒松对照品用流动相配成适当浓度的溶液,分别在 200 ~ 400 nm 波长范围进行扫描,确认氯霉素在 275nm,确炎舒松在 240nm 波长处有最大吸收,考虑到制剂中氯霉素含量(1%)远高于确炎舒松含量(0.15%),且氯霉素在 240nm 处也有较大吸收,故选择 240nm 作为检测波长。

3.2 流动相的选择

对不同的流动相进行试验发现,使用甲醇和超纯水时,无论何种配比均不能将氯霉素、基质峰和确炎舒松分离,用 0.025mol $\cdot$ L⁻¹ NaH₂PO₄ 替代超纯水后,甲醇所占比例的改变对确炎舒松保留时间的影响明显大于对氯霉素的影响,最终确定甲醇与 0.025mol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸二氢钠配比在 65:35 时,氯霉素与确炎舒松能够完全分离,且基质对两组分的测定不会产生干扰。

本方法简便、可靠,适合于确炎舒松霜的常规含量测定。利用本方法测定 3 个不同批号的确炎舒松霜制剂,氯霉素和确炎舒松含量均在标示量的 90 ~ 110% 之间。

收稿日期:2004-06-01