

反相高效液相色谱法测定抗炎涂剂中氯霉素的含量

纪美玉(嘉兴市南湖制药有限责任公司,浙江 嘉兴 314013)

摘要:目的 建立抗炎涂剂中氯霉素含量的 HPLC 法测定法。方法 色谱条件:shim-pack ODS 柱(150mm×4.6mm,5 μ m),流动相:0.34%磷酸二氢钾-甲醇(40:60),流速 0.8mL/min,检测波长:278nm,进样量:20 μ L。结果 氯霉素浓度在 50~150 μ g/mL 范围内线性良好, $r=0.99999$,平均回收率为 100.45%,RSD=0.52%, $n=6$ 。结论 该方法简便快速,灵敏度高,结果准确,适用于该制剂中氯霉素的含量测定。

关键词:氯霉素;涂剂;HPLC 法

抗炎涂剂由氯霉素、丙二醇、地塞米松磷酸钠、乙醇等组成,临床上用于治疗痤疮、皮炎等病症。氯霉素是其主要的抗菌成分,但质量标准中依定性鉴别,质量难以控制。有关氯霉素的含量测定主要有紫外光谱法^[1],但不适用于复方制剂,主要受到地塞米松磷酸钠的光谱干扰。本实验经摸索建立了反相高效液相色谱法测定抗炎涂剂中氯霉素的含量,地塞米松磷酸钠等组分不干扰测定,且操作简单快速,重现性好,结果准确。现报道如下:

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪,SPD-10Avp 紫外检测器,HS 色谱数据工作站(杭州英谱),Rheodyne7725i 进样阀,20 μ L 定量管。

1.2 试剂

氯霉素对照品(药典规格,含量 99.5%),抗炎涂剂三批(嘉兴二院提供),批号分别为 020813,020824,020905;甲醇为 HPLC 纯,磷酸二氢钠为分析纯,水为蒸馏水。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

shim-Pack ODS 柱(150mm×4.6mm,5 μ m),流动相:0.34%磷酸二氢钾-甲醇(40:60),流速 0.8mL/min,检测波长:278nm,进样量:20 μ L,柱温:室温,流动相经 0.45 μ m 滤器过滤。在此色谱条件下系统适用性测试结果为保留时间 4.65min,拖尾因子 1.12,理论板数为 2714。

2.2 线性关系

精密称取经 105℃干燥至恒重的氯霉素对照品 0.1250g,置 100mL 量瓶中,加乙醇 5mL 溶解后用水稀释至刻度,摇匀,作贮备液,再精密量取 1.0,1.5,2.0,2.5 和 3.0mL 分置于同一 25mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,取 20 μ L 注入液相色谱仪,记录色谱图(见图 1)。以氯霉素峰面积($Y \times 10^6$)对浓度 $C(\mu\text{g/mL})$ 作线性回归,得 $C=-1.512+38.24Y$, $r=0.99999$, $n=5$ 。结果表明在此色谱条件下,氯霉素浓度在 50~150 μ g/mL 范围内线性良好。

2.3 回收率试验

精密量取配制的空白液 1mL,共 6 份,分置于 100mL 量瓶中,分别精密加入氯霉素对照品贮备液 1.5mL(相当于处方量 75%),2.0mL(相当于处方量 100%),2.5mL(相当于处

方量 125%),用水稀释至刻度,摇匀;另精密配制 100 μ g/mL 的氯霉素对照品溶液,各取样品液与对照品液 20 μ L 进样,测定。按外标法以峰面积计算氯霉素的平均回收率为 100.45%,RSD=0.52%, $n=6$ 。

2.4 精密性试验

取回收率试验项下相当于处方量 100%的样品液,重复进样 6 次,测定氯霉素的峰面积为 2.660×10^6 ,RSD=0.1%。

2.5 重现性试验

取同一批号样品(批号 020905)5 份,依法测定,求得氯霉素的平均含量为 98.4%,RSD=0.4%, $n=5$ 。

2.6 样品的测定

精密量取本品 1mL,各 6 份,分置于 100mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,按回收率试验项下方法测定,3 批样品的含量见表 1。

表 1 样品含量测定结果(标示量%, $n=3$)

样品批号	HPLC 法
020813	99.5%(0.3)
020824	100.6%(0.2)
020905	98.8%(0.3)

注:括号内为 RSD(%)值

3 讨论

3.1 用贮备液配制 20 μ g/mL 的氯霉素对照品溶液,于 300~250nm 之间进行波长扫描,结果表明氯霉素在 278nm 处有最大吸收,故选择 278nm 作检测波长。

3.2 经试用甲醇-水,甲醇-0.34%磷酸二氢钾溶液按不同比例配制作流动相,结果表明在甲醇-0.34%磷酸二氢钾溶液作流动相时,氯霉素峰型对称,出峰速度快,柱效高,当甲醇比例增高时,出峰速度加快,增加磷酸二氢钾浓度,柱效提高,经摸索以 0.34%磷酸二氢钾-甲醇(40:60)作流动相,氯霉素与其他组份分离良好,保留时间为 4.65min,达到了快速分析的目的。

3.3 本法用于抗炎涂剂的测定,具有操作简单快速,重现性好,结果准确可靠,为该制剂的质量标准制定及质控提供了方法依据。

收稿日期:2003-07-10