

HPLC 同时测定复方硫酸新霉素药膜中盐酸丁卡因和克霉唑的含量

叶婷婷, 林珠(宁波市第一医院药学部, 浙江 宁波 315010)

摘要:目的 建立同时测定复方硫酸新霉素药膜中盐酸丁卡因和克霉唑含量的方法。方法 采用 HPLC, 以 Agilent HC-C₁₈ 为色谱柱, 流动相为甲醇-0.1%三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 3.0)(85:15), 盐酸丁卡因和克霉唑的检测波长分别为 311 nm 和 227 nm, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 20 °C, 进样 20 μL。结果 盐酸丁卡因在 2.5~50.0 mg·L⁻¹ 内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 99.3%, RSD=0.99%($n=9$); 克霉唑在 5.33~106.5 mg·L⁻¹ 内峰面积与浓度呈良好的线性关系($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 99.8%, RSD=1.28%($n=9$)。结论 本法简便、准确、重复性好, 可用于复方硫酸新霉素药膜中盐酸丁卡因和克霉唑的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 复方硫酸新霉素药膜; 盐酸丁卡因; 克霉唑; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)06-0536-04

作者简介: 叶婷婷, 女, 主管药师

Tel: 13486402332

E-mail: ytt@nbdyyy.com

Simultaneous Determination of Tetracaine Hydrochloride and Clotrimazole in Compound Neomycin Sulfate Pellicles by HPLC

YE Tingting, LIN Zhu(The Pharmacy Department of Ningbo No.1 Hospital, Ningbo 315010, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for simultaneous determination of tetracaine hydrochloride and clotrimazole in compound neomycin sulfate pellicles. **METHODS** An HPLC method was adopted. The column was Agilent HC-C₁₈, the mobile phase was a mixture of methanol-0.1% triethylamine solution(adjusted to pH 3.0 with phosphoric acid) (85 : 15), the detection wavelength was 311 nm and 227 nm for tetracaine hydrochloride and clotrimazole, respectively, the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹, the column temperature was maintained at 20 °C, and the injection volume was 20 μL. **RESULTS** The linear range of tetracaine hydrochloride was 2.5–50.0 mg·L⁻¹(*r*=0.999 5), and the average recovery was 99.3%, RSD=0. 99% (*n*=9). The linear range of clotrimazole was 5.33–106.5 mg·L⁻¹(*r*=0.999 5), and the average recovery was 99.8%, RSD= 1.28% (*n*=9). **CONCLUSION** The method is simple, accurate, reproducible, and suitable for the simultaneous determination of tetracaine hydrochloride and clotrimazole in compound neomycin sulfate pellicles.

KEY WORDS: HPLC; compound neomycin sulfate pellicles; tetracaine hydrochloride; clotrimazole; content determination

复方硫酸新霉素药膜是笔者所在医院生产的常用制剂,其主要成分为硫酸新霉素、盐酸丁卡因和克霉唑等,临床用于口腔溃疡的治疗,效果良好。现行版《浙江省医疗机构制剂规范》中对此制剂只要求作定性鉴别及重量差异,未对主药进行含量测定。文献有对盐酸丁卡因和克霉唑单独进行含量测定^[1-2],但未有同时测定二者的方法报道。本实验采用 HPLC 同时测定盐酸丁卡因和克霉唑的含量,为方便、有效地控制该制剂质量提供重要依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

HP-1100 高效液相色谱仪系列(美国惠普公司),包括 G1322A 脱气装置、G1311A 四元泵、A1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1315A 二极管阵列检测器、HP 化学工作站;METTLER TOIEDO AB204-E 电子天平(瑞士)。

1.2 试药

盐酸丁卡因对照品(北京市燕京药业有限公司;批号:100403,纯度:99.6%);克霉唑对照品(常州亚邦制药有限公司;批号:M090702,纯度:99.7%);复方硫酸新霉素药膜(宁波市第一医院;批号:20110213,20110523,20110802;规格:每袋8片);甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司);其他试剂均为分析纯;水为注射用水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent HC-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 3.0)(85 : 15),盐酸丁卡因和克霉唑的检测

波长分别为 311 nm 和 227 nm,流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 20 °C,进样 20 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品储备液 精密称取盐酸丁卡因和克霉唑对照品适量,用流动相溶解制成质量浓度约为 100 mg·L⁻¹和 213 mg·L⁻¹的混合对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液 取复方硫酸新霉素药膜 3 片(分别含盐酸丁卡因约 2.5 mg、克霉唑约 5.0 mg),置 50 mL 量瓶中,加 3 mL 水超声溶解,并加流动相稀释至刻度,摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

2.3 样品定性分析

按“2.1”项下色谱条件对照品、供试品,记录色谱图。对照品与供试品图谱中,丁卡因与克霉唑峰形稳定,出峰时间一致。色谱图见图 1。

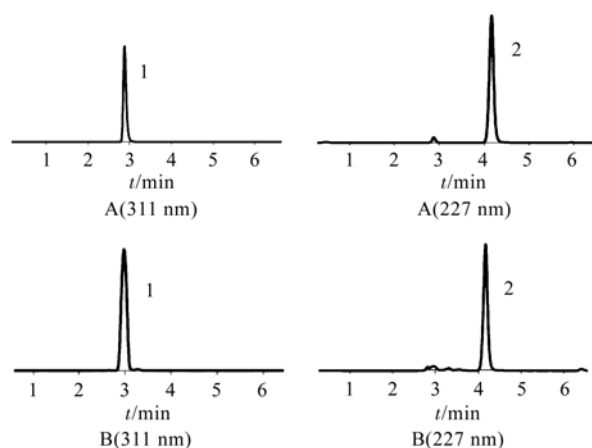


图 1 HPLC 色谱图

A-对照品; B-供试品; 1-丁卡因; 2-克霉唑

Fig 1 HPLC chromatograms

A-chemical reference substance; B-sample; 1-tetracaine hydrochloride; 2-clotrimazole

2.4 线性关系

精密量取对照品储备液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 配制盐酸丁卡因和克霉唑浓度分别为 2.5~50.0, 5.33~106.5 mg·L⁻¹ 的系列标准溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积(Y)对药物质量浓度(X)进行线性回归, 得盐酸丁卡因回归方程: $Y=69.2X-4.003$, $r=0.999\ 5$; 克霉唑回归方程: $Y=58.93X+24.97$, $r=0.999\ 5$ 。结果表明盐酸丁卡因和克霉唑分别在 2.5~50.0, 5.33~106.5 mg·L⁻¹ 内线性关系良好。

2.5 仪器适应性试验

取含盐酸丁卡因 20.0 mg·L⁻¹ 和克霉唑 42.6 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 盐酸丁卡因浓度 RSD=0.21%, 克霉唑浓度 RSD=0.18%($n=6$), 表明该方法仪器适用性良好。

2.6 重复性试验

取复方硫酸新霉素药膜(批号: 20110802)18 片, 精密称定, 计算每片平均重量, 剪碎, 按重量精密称定分成平均 6 份, 按“2.2.2”项下方法配制溶液后, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 得盐酸丁卡因平均浓度为 0.678 mg·片⁻¹, RSD=0.52%; 克霉唑平均浓度为 1.486 mg·片⁻¹, RSD=0.28%($n=6$)。表明该方法在测定制剂时重复性良好。

2.7 回收率试验

取复方硫酸新霉素药膜 3 片, 置 50 mL 量瓶中, 加 3 mL 水超声溶解, 并加流动相稀释至刻度, 摇匀, 得样品溶液。精密量取 1 mL 样品溶液至 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 测得样品溶液浓度。精密量取 1 mL 样品溶液至 10 mL 量瓶中, 根据测得的样品溶液浓度, 按高、中、低浓度分别加入盐酸丁卡因和克霉唑的混合对照品溶液, 以流动相定容, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。每个浓度重复试验 3 次, 计算平均回收率。结果见表 1。

2.8 稳定性实验

取“2.2.2”项下供试品溶液, 室温下于 0, 2, 4, 6, 8 h 分别进样测定, 记录峰面积。盐酸丁卡因和克霉唑的峰面积 RSD 分别为 1.18%和 0.58%。

表 1 加样回收率结果($n=9$)

Tab 1 The recovery results($n=9$)

组 分	样品/ mg·L ⁻¹	添加量/ mg·L ⁻¹	测得量/ mg·L ⁻¹	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
盐酸丁卡因	4.20	3.24	7.39	98.8	99.3	0.99
	4.20	3.24	7.38	98.6		
	4.20	3.24	7.37	98.3		
	4.20	4.05	8.23	99.5		
	4.20	4.05	8.20	98.8		
	4.20	4.05	8.32	101.7		
	4.20	4.86	9.03	99.3		
	4.20	4.86	9.03	99.3		
	4.20	4.86	9.03	99.3		
克霉唑	9.01	7.05	16.00	99.3	99.8	1.28
	9.01	7.05	15.89	98.1		
	9.01	7.05	16.07	100.1		
	9.01	8.81	17.96	101.6		
	9.01	8.81	17.83	100.1		
	9.01	8.81	17.69	98.6		
	9.01	10.57	19.74	101.8		
	9.01	10.57	19.50	99.1		
	9.01	10.57	19.50	99.1		

表明溶液在 8 h 内稳定。

2.9 样品测定

取 3 批样品(批号: 20110213, 20110523, 20110802), 按“2.2.2”项下方法配制溶液后, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 用峰面积外标法计算克霉唑和盐酸丁卡因含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定($n=3$)

Tab 2 Determination of samples($n=3$)

批 号	盐酸丁卡因		克霉唑	
	标示量/%	RSD/%	标示量/%	RSD/%
20110213	88	0.25	92	0.22
20110523	84	0.33	94	0.29
20110802	85	0.37	89	0.27

3 讨论

3.1 检测波长的确定

以流动相为空白, 于波长 200~400 nm 内对盐酸丁卡因和克霉唑溶液进行扫描, 盐酸丁卡因在 227, 311 nm 分别有一个吸收峰; 克霉唑最大吸收波长为 220 nm, 且在 227 nm 波长下仍有较强吸收, 故首先选择 227 nm 为单一检测波长。而样品检测时发现 227 nm 下丁卡因含量较低导致吸收过弱, 故增加 311 nm 为丁卡因的检测波长。对文献中提到的克霉唑最大吸收波长 215, 225 和 254 nm^[1,3]也进行了检测, 发现与 227 nm 相比未有更好表现, 故依然选择 227 nm 为克霉唑的检测波长, 为以后同时测定克霉唑与高含量丁卡因时选择单

一波长提供数据支持。由此确定本实验以 227 nm 和 311 nm 进行双波长检测。

3.2 流动相的确定

试验过程中以甲醇-水(85:15)和 75:25 分别进样,前者分离度及峰形更优。尝试在水相中加入不同浓度的三乙胺来解决拖尾现象^[4],确定 0.1%三乙胺水溶液效果最优。根据文献,盐酸丁卡因在不同 pH 的溶媒中于 228 nm 和 311 nm 有不同强度的吸收峰^[5]。实验分别以磷酸调水相 pH 至 2.0, 3.0, 4.0, 8.0 进行检测,以水相 pH 3.0 时峰形最好。由此确定本实验以甲醇-0.1%三乙胺溶液(用磷酸调 pH 至 3.0) (85:15)为流动相。

3.3 流速的确定

流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 227 nm 检测波长下, 克霉唑峰与其他成分峰分离不够完全, 而流速 $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 能达到满意的分离度。

3.4 其他

做重复性实验时, 把同批制剂的 6 份样品混匀后再重新取样, 是考虑到医院制剂的工艺水平有限, 每张药膜有较大的重量差异。如此操作可在方法制定阶段最大限度避免误差。

由样品测定结果看, 3 批制剂的含量均较低, 尤其丁卡因更比克霉唑低。原因可能是膜剂制作

工艺导致的大小不一、厚薄不均; 搅拌时主药因量少而未达到充分混匀; 以及测试时样品溶解提取未完全。因此更应制订有效的含量测定方法, 保证医院制剂的质量。

本实验采用高效液相色谱法同时测定复方硫酸新霉素药膜中盐酸丁卡因和克霉唑的含量, 操作简便、准确, 重复性好, 可有效用于医院制剂的质量控制。

REFERENCES

- [1] WANG Q F, XIA Y Y. Determination of clotrimazole in compound neomycin sulfate oral ulcer pellicles by HPLC [J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2006, 21(3): 290-291.
- [2] YU Y F, LIU J L. Determination of tetracaine hydrochloride in oral ulcer pellicles by HPLC [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2008, 20(2): 39-40.
- [3] WANG Y. Determination of diphenyl-(2-chlorophenyl)-methanol and clotrimazole in compound clotrimazole cream by HPLC [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2010, 11(3): 227-230.
- [4] ZHENG F, ZHU X S, LI P, et al. Determination of three constituents in oral ulcer paste by multiple-gradient HPLC [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2010, 14(10): 1153-1155.
- [5] JIANG R R. Tetracaine hydrochloride in different pH solution by UV absorption spectrum [J]. J Qiqihar Med Coll(齐齐哈尔医学院学报), 2008, 29(2): 172.

收稿日期: 2011-11-09