

高效液相色谱法测定痤疮霜的含量

刘建红 吴 民 管继萍 袁 涛 朱春梅(克拉玛依 834000 新疆克拉玛依石油管理局总医院)

摘要 目的:测定痤疮霜中甲硝唑和氯霉素的含量。方法:高效液相色谱法,以地塞米松为内标, Nova-Pak C₁₈柱, 甲醇-水为流动相;测定波长 260nm。结果:一次进样可完成 2 种化学性质不同组份的含量分析。甲硝唑 9.94 ~ 109.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 氯霉素 4.92 ~ 54.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内,峰面积与其浓度呈良好的线性关系;平均回收率依次为 97.31%, $RSD = 0.94\%$; 98.12%, $RSD = 0.78\%$ ($n = 5$)。结论:方法简便,结果满意,适于医院制剂分析。

关键词 高效液相色谱法;甲硝唑;氯霉素

Assay of Zhuochuangshuang by HPLC

ABSTRACT OBJECTIVE: To separate and determine the contents of metronidazole and chlormycetin in Zhuochuangshuang. **METHODS:** A HPLC method was used with a column of Nova-Pak C₁₈. Dexamethasone was used as internal standard. The mobile phase consist of methanol and water. The detecting wavelength was 260nm. **RESULTS:** The separation and determination of two constituents were accomplished by only one sample inject. The calibration curves were linear in the range of 9.94 ~ 109.34 μ g/ml for metronidazole , and 4.92 ~ 54.12 μ g/ml for chloromycetin. The average recoveries of metronidazole ,chloromycetin were 97.31 % (RSD = 0.94 %) , 98.12 % (RSD = 0.78 % , n = 5) respectively. **CONCLUSION:** This method was simple and quick for the simultaneous determination of the contents in Zhuochuangshuang.

KEY WORDS HPLC , metronidazole , chlormycetin

我院制剂痤疮霜在临床用于治疗痤疮,疗效较好,其主要有效成分为甲硝唑、氯霉素。本文采用以地塞米松为内标,用高效液相分离测定霜剂中这2种成分的含量。本方法准确、快速且峰形好,样品回收率高而稳定,适于医院的质量分析。

1 仪器与药品

Waters 液相色谱仪 510 泵, 486 紫外检测器, Millennium 2010 液相色谱数据处理软件; UV-2100 紫外分光光度计; 色谱柱为 Nova-Pak C₁₈ 柱(3.9 × 150 mm, 4 μ g)。

甲硝唑、氯霉素、地塞米松对照品(中国药品生物制品检定所), 以上对照品经面积归一化测定含量均在 99.5% 以上。甲醇为色谱纯, 痤疮霜为我院配制, 所用试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 3.9 × 150 mm 不锈钢柱, 固定相为 Nova-Pak C₁₈; 流动相为甲醇-水(30:50), 流速 1.30 ml/min; 测定波长 260 nm; 检测灵敏度 0.001。

2.2 系统适用性试验

在该色谱条件下的色谱图可见, 甲硝唑、氯霉素的理论塔板数分别为 1100, 2000。基质峰 1 与甲硝唑、甲硝唑与氯霉素、氯霉素与地塞米松的分离度依次为 2.2, 6.5 和 5.1。

2.3 标准曲线的制备

2.3.1 内标液的配制 精密称取地塞米松 25.12 mg 于 100 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 配成浓度为 251.2 μ g/ml。

2.3.2 标准液的配制 分别精密称取甲硝唑、氯霉素对照品 49.7 和 24.6 mg 于 100 ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得混合标准液。

2.3.3 标准曲线的制备 于 10 ml 量瓶中, 加入内标液 1 ml, 再分别加入上述混合标准液 0.2, 0.6, 1.0, 1.4 和 2.2 ml, 加甲醇至刻度, 摇匀。进样 10 μ l, 以各组分与内标的峰面积比 A 与进样浓度 c 进行回归, 得线性方程: 甲硝唑: $A = 0.1668c + 0.5800$, $r = 0.9998$; 氯霉素: $A = 0.2973c + 0.5001$, $r = 0.9998$ 。线性范围分别为: 甲硝唑: 9.94 ~ 109.34 μ g/ml, 氯霉素: 4.92 ~ 54.12 μ g/ml。

2.4 样品分析

精密称取痤疮霜 2.5 g, 加甲醇 30 ml, 于 50 $^{\circ}$ C 水浴上溶解, 再放置冰浴上使基质析出, 滤过, 滤液置 100 ml 量瓶中, 用适量甲醇洗涤容器及滤器, 洗涤液并入量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。精密吸取该液 1 ml 置 10 ml 量瓶中, 另加内标液 1 ml, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀后即可进样分析, 进样量为 10 μ l。

2.5 干扰性实验

按处方量取空白基质适量(约 2.4 g), 照上述方法进行测定, 可见基质不干扰痤疮霜中 2 种有效成分的测定。

2.6 加样回收率测定

取痤疮霜约 2.5 g, 精密称定, 精确加入一定量甲硝唑、氯霉素标准品, 按上述样品分析方法同样操作, 进行加样回收率测定。甲硝唑的回收率为 97.31% (RSD = 0.94%, n = 5); 氯霉素的回收率为 98.12% (RSD = 0.78%, n = 5)。

2.6 方法重现性考察

将测定回收率的样品溶液分别在日内的不同时间(4, 8, 12 和 16 h) 和日间(1, 2 和 3 d) 进样进行 HPLC 分析。结果甲硝唑的日内精密密度为 RSD = 0.71% (n = 5), 日间为 RSD = 0.32% (n = 3); 氯霉素的日内精密密度为 RSD = 1.34% (n = 5), 日间为 RSD = 0.56% (n = 3)。表明方法的重现性好。

2.7 样品分析结果

取痤疮霜(批号 990202)约 2.5g,精密称定,按样品分析方法同样操作进行含量测定,结果见表 1。

表 1 痤疮霜中有效成分的含量/ $n=3$

成份	标示含量/ %	RSD/ %
甲硝唑	97.9	1.1
氯霉素	98.7	1.0

3 讨论

3.1 用甲醇将痤疮霜在微热的情况下溶解,冷却后过滤,这样既可将样品中的有效成分提取完全,又可排除基质的干扰,因在冰浴中霜剂中的基质可析出。

3.2 本文采用的内标法测定,操作简单,灵敏度高,为复方制剂的质量控制提供了一种简便、快速而准确的分析方法。

收稿日期:1999-05-21