

3 讨论

3.1 根据药典规定颠茄酊中莨菪总碱(包含东莨菪碱等)的含量为 0.028%~0.032%,其中莨菪碱约占莨菪总碱的 75.93%~86.79%,是莨菪总碱的主要成分,本实验即采用测定复方颠茄合剂中的莨菪碱,根据处方复方颠茄合剂中含 5% 的颠茄酊,则每毫升复方颠茄合剂中含莨菪碱 10.63~13.89 μg 。

3.2 复方颠茄合剂中莨菪碱含量测定的难点在于排除制剂中吗啡与樟脑的干扰,我们曾采用了药典中莨菪碱的测定方法,即选用酸性染料溴甲酚绿溶液,在一定 pH 中使其与莨菪碱(或阿托品)定量结合成有色络合物,用氯仿提取后,在其最大吸收波长 420nm 处测定其吸光度值,但实验结果表明标准品阿托品及吗啡和樟脑在此条件下均有最大吸收,且三者扫描图谱基本平行,无法用二阶导数法排除二者干扰^[6-9]。

3.3 经过进一步探索,我们发现采用酸性染料比色法在 pH 6.6 磷酸缓冲液中莨菪碱与酸性染料溴甲酚紫能够进行选择性的络合,形成有色络合物可被氯仿提取,氯仿层经碱脱色,水相用分光光度法在 (589 \pm 1)nm 波长处具有最大吸收,且溶液浓度在 1.2~7.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时呈线性关系,符合比尔定律。并且,经实验表明,在此条件下,东莨菪碱、阿托品以及吗啡对反应无干扰。其原因经分析可能为溴甲酚紫与氮原子结合形成络合物,东莨菪碱中氧环的氧原子与氮原子形成 N \rightarrow O 键,从而阻碍氮原子与溴甲酚紫形成络合物,此外吗啡分子中酚羟基和叔氮原子为两性物质, pKa = 9.795, pKb = 6.125, 在 pH 6.6 的条件下成盐溶解,形成的络合物分布在水相。

3.4 本法测定结果准确度的关键在于溶液的 pH,一般中性、酸性及弱碱性的物质对分析无干扰;强酸由于可改变染料溶液或缓冲液的 pH 而有干扰,具有较高缓冲指数的缓冲液,可以消除这种干扰。根

据溴甲酚紫的 pKa 为 6.3,缓冲液 pH 可控制在 5.8~6.8,我们的经验是缓冲溶液 pH 值 6.6 为宜。此外,由于复方颠茄合剂中含有苯甲酸 pH 为 4.6,测定时应将其调到 pH = 6。如不预先调节 pH,直接测定的话,回收率可高达 110.2%~113.0%(8 次测定平均值),这是因为 pH 过低染料分配到氯仿层所致,而调节 pH 后平均回收率为 100.02%。

3.5 溴甲酚紫溶液浓度以 $4 \times 10^{-4} \text{M}$ 为宜,浓度过高,氯仿振荡提取络合物时则易形成难于破坏的乳化层。用氯仿提取时,静置时间要在 20min 以上,使氯仿与水层严格分开,否则,微量的水分可使氯仿层发生浑浊,而且带入水相中的过量染料,会影响测定结果;其次,氯仿萃取过程中应防止氯仿挥发,否则会使测定结果偏高。

3.6 本法采用酸性染料比色法测定了复方颠茄合剂中莨菪碱的含量,方法简便,结果准确,灵敏度高,重现性好,为完善制剂的质量标准提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[S]. 北京:人民军医出版社,1993:92,33.
- [2] 陈耀祖. 有机分析[M]. 北京:高等教育出版社,1981:544~574.
- [3] 中国药典 2000 版. 二部[S]. 2000: 874~875.
- [4] 南京药学院药物分析教研室编著. 药物分析[M]. 江苏:科学技术出版社,1981:578~586.
- [5] 安登魁,张正行,盛龙生. 药物分析[M]. 济南:济南出版社,1992:1200~1206.
- [6] 李隆康,雷灼雨. 酸性染料比色法测定颠茄合剂含量[J]. 中国医院药学杂志,1999,16(1):25.
- [7] 梁美凤,陈国锐,陈玉萍. 酸性染料比色法考察苏酊合剂的稳定性[J]. 海峡药学,1997,9(1):20.
- [8] 邓朝晖. 酸性染料比色法测定复方硫酸阿托品滴眼中硫酸阿托品含量[J]. 军队药学,2000,10(1):30.
- [9] 罗凤琴,黄萍,赵春景. 酸性染料比色法测定盐酸丁卡因滴眼液的含量[J]. 泸州医学院学报,2003,26(1):31.

收稿日期:2006-01-13

HPLC 法同时测定复方酮康唑凝胶剂中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量

张倩¹,宋洪涛²,陈雅婷¹,康鲁平²(1. 福建医科大学药学院,福建 福州 350004;2. 南京军区福州总医院药剂科,福建 福州 350025)

摘要 目的:建立复方酮康唑凝胶剂中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱为 Hypersil ODS2 C₁₈ 柱,甲醇-0.2% 三乙胺(醋酸调 pH 至 6.9, V:V=75:25)为流动相,流速 1.0 mL/min,检测波长 239nm。结果:酮康唑在 10.08~

作者简介:张倩(1972-),女,硕士,工程师。Tel: 13850153200.
E-mail: sohoto_sohu.com

201.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, $r = 0.9999$; 丙酸氯倍他索在 0.251 ~ 5.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, $r = 0.9998$ 。酮康唑的平均回收率为 99.59%, RSD 为 0.77%; 丙酸氯倍他索的平均回收率为 100.76%, RSD 为 1.18%。结论: 本方法分离度好, 简便, 准确, 适用于复方酮康唑凝胶剂中 2 组分的同时测定, 可作为产品的质量控制方法。

关键词 高效液相色谱法; 复方酮康唑凝胶剂; 酮康唑; 丙酸氯倍他索

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0111(2006)06-0336-04

Simultaneous determination of ketoconazole and clobetasol propionate in compound ketoconazole gel by HPLC

ZHANG Qian¹, SONG Hong-tao², CHEN Ya-ping¹, KANG Lu-ping² (1. School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China; 2. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method for simultaneous determination of ketoconazole and clobetasol propionate in compound ketoconazole gel. **Methods:** HPLC method was developed. Chromatographic conditions included Hypersil ODS2 C_{18} column and the mobile phase was methanol - 0.2% triethylamine (adjust with acetic acid to a pH of 6.9, $V:V = 75:25$). The flow rate was 1.0 mL/min and the UV detection wavelength was at 239 nm. **Results:** Ketoconazole had a good linearity ($r = 0.9999$) in the range of 10.08 ~ 201.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, its average recovery was 99.59% ($RSD = 0.77\%$). Clobetasol propionate had a good linearity ($r = 0.9998$) in the range of 0.251 ~ 5.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$, its average recovery was 100.76% ($RSD = 1.18\%$). **Conclusion:** The method was simple, sensitive and accurate for simultaneous determination of the two constituents in compound ketoconazole gel.

KEY WORDS HPLC; compound ketoconazole gel; ketoconazole; clobetasol propionate

复方酮康唑乳膏主要成分为酮康唑、丙酸氯倍他索和硫酸新霉素^[1], 临床广泛用于治疗各种皮肤浅表真菌感染, 如手癣、足癣、体癣、股癣等, 疗效确切。由于乳膏剂具有涂布不均、污染衣物且不易洗除等缺点, 而凝胶剂为透明的半固体, 质地均匀, 外观透明、细腻, 展开后容易涂布, 涂布在皮肤上能形成透明的薄膜, 附着性强, 释药快, 滞留时间长, 无气闷、油腻感, 易洗除, 不污染衣物和皮肤, 对皮肤和黏膜无刺激性, 适合皮肤局部外用。为此, 我们尝试将复方酮康唑乳膏改变剂型为凝胶剂, 为了控制制剂的质量, 保证药物的安全、有效、质量可控, 本文参照文献^[2]建立了高效液相色谱法同时测定酮康唑和丙酸氯倍他索 2 种组分含量的方法。

1 仪器与试剂

Agilent-1100 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦); 酮康唑对照品、丙酸氯倍他索对照品 (中国药品生物制品检验所); 复方酮康唑凝胶剂 (自制, 批号: 050406, 050408, 050412); 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的确定 分别用无水乙醇配制适宜浓度的酮康唑对照品溶液和丙酸氯倍他索对照品溶液, 以无水乙醇为空白, 在 400 ~ 200nm 范围内进行

紫外扫描, 扫描图谱见图 1。结果表明, 酮康唑的最大吸收峰在 242 nm, 丙酸氯倍他索在 239 nm 处有最大吸收。因处方中丙酸氯倍他索的用量仅为酮康唑的 1/40, 在丙酸氯倍他索的最大吸收波长 239 nm 处酮康唑也有较大的吸收, 因此, 选定 239 nm 为检测波长。

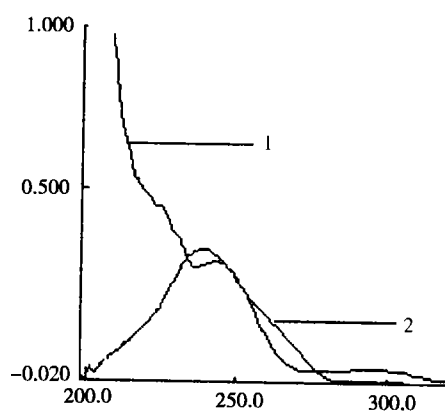


图 1 紫外扫描图谱

1 - 酮康唑; 2 - 丙酸氯倍他索

2.2 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS2 C_{18} (200mm \times 4.6mm, 5 μm , 大连依利特科学仪器有限公司); 流动相: 甲醇 - 0.2% 三乙胺 (醋酸调 pH 至 6.9, $V:V = 75:25$); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 239 nm; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 20 μL 。在此色谱条件下, 酮康唑

和丙酸氯倍他索的峰能完全分开,且样品中其他成分对测定没有干扰,色谱图见图2。

2.3 对照品储备溶液的制备 精密称取酮康唑对照品 100 mg,置 100mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为酮康唑对照品储备液。精密称取丙酸氯倍他索对照品 25 mg,置 100 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取

5.0mL,置 50mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,作为丙酸氯倍他索对照品储备液。

2.4 供试品溶液的制备 取复方酮康唑凝胶约 1.0 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入适量无水乙醇,超声提取 15 min,再加无水乙醇至刻度,摇匀。先用滤纸过滤后,再经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,续滤液即为供试品溶液。

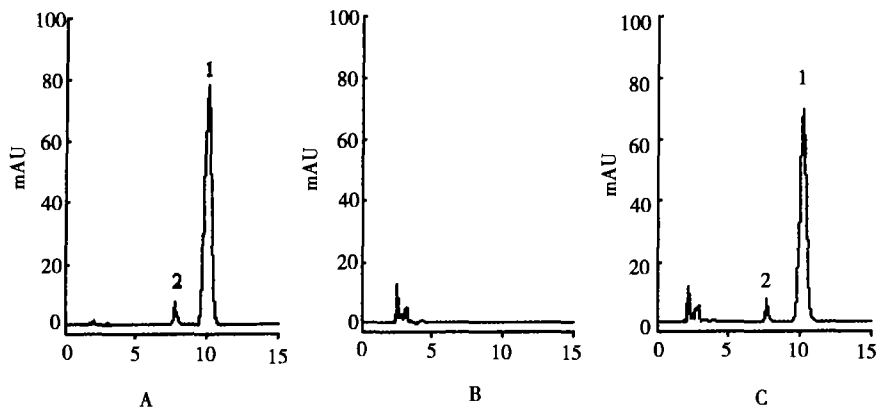


图2 HPLC 色谱图

A - 对照品; B - 空白凝胶; C - 样品; 1 - 酮康唑; 2 - 丙酸氯倍他索

2.5 线性关系考察 分别精密量取酮康唑和丙酸氯倍他索对照品贮备液各 0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 mL 置 50 mL 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,分别进样 20 μ L,记录色谱峰面积,并以浓度 (μ g/mL) 为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程。结果酮康唑在 10.08 ~ 201.16 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好,线性回归方程为: $A = 65.405 C - 131.06$, $r = 0.9999$ 。丙酸氯倍他索在 0.251 ~ 5.02 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好,线性回归方程为: $A = 7.8096 C - 0.8831$, $r = 0.9998$ 。

2.6 精密度的试验 取高、中、低 3 种不同浓度的酮康唑和丙酸氯倍他索对照品溶液,同日内重复进样 5 次,连续考察 5d,测定峰面积。结果酮康唑日内、日间 RSD 分别为 0.61% 和 1.22%,丙酸氯倍他索日内、日间 RSD 分别为 1.03% 和 1.81%,表明精密程度良好。

2.7 稳定性试验 取供试品溶液在 0、2、4、8、12、24 h 测定,分别记录峰面积,考察其稳定性。酮康唑和丙酸氯倍他索的 RSD 分别为 1.14% 和 1.78%,表明供试品溶液中 2 组分在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验 取同批号样品 5 份,照样品含量测定项下方法测定复方酮康唑凝胶剂中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量,酮康唑的平均含量为 10.28

mg/g, RSD 为 0.81%;丙酸氯倍他索的平均含量为 0.254 mg/g, RSD 为 0.88%。

2.9 回收率试验 称取空白凝胶 6 份,每份 1.0 g,精密称定,分别精密加入一定量的酮康唑和丙酸氯倍他索对照品溶液,充分研匀,按 2.4 项下方法制备待测液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算回收率。结果见表 1。

2.10 样品含量测定 取复方酮康唑凝胶约 1.0g,按 2.4 项下方法制备样品溶液,精密吸取对照品溶液和样品溶液各 20 μ L 进样,记录峰面积,按外标法以峰面积计算样品中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量,结果见表 2。

3 讨论

用 HPLC 法同时测定酮康唑和丙酸氯倍他索的含量,必须选择合适的流动相以获得较好的分离度,以及适宜的保留时间。实验中尝试了不同体积比的甲醇水溶液,同时考察了不同 pH 值对保留时间的影响,结果发现,甲醇 - 0.2% 三乙胺(醋酸调 pH 至 6.9, V: V = 75 : 25) 为最适流动相条件,此时的保留时间酮康唑约为 10min,丙酸氯倍他索约为 8min,二者的分离度为 2.56。甲醇比例增大和流动相 pH 的减小均能使酮康唑和丙酸氯倍他索的保留时间缩短。

表 1 酮康唑及丙酸氯倍他索回收率试验结果 (n = 6)

成分	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
酮康唑	8.056	7.954	98.73	99.59	0.77
	8.056	8.090	100.42		
	10.070	10.005	99.35		
	10.070	10.132	100.62		
	12.084	11.958	98.96		
	12.084	12.020	99.47		
丙酸氯倍他索	0.216	0.219	101.39	100.76	1.18
	0.216	0.222	102.78		
	0.270	0.272	100.74		
	0.270	0.269	99.63		
	0.324	0.325	100.31		
	0.324	0.323	99.69		

表 2 酮康唑凝胶样品测定结果 (n = 3)

批号	酮康唑含量 (mg/g)	丙酸氯倍他索含量 (mg/g)
050406	10.28	0.254
050408	9.72	0.248
050412	9.80	0.252

用无水乙醇对样品稍作处理即可制备样品溶液直接测定,不受处方中其他成分的干扰,方法简便。根据 3 批样品的含量测定结果,酮康唑和丙酸氯倍他索的含量均在标示量的 90.0% ~ 110.0% 范围内。复方酮康唑凝胶剂为外用制剂,每次用药量并

非十分严格,结合样品含量测定结果拟定本品中酮康唑和丙酸氯倍他索的合格范围均为标示量的 90.0% ~ 110.0%。本方法分离度较好、简便、准确,适用于凝胶剂中 2 组分的同时测定,可作为制剂的质量控制标准。

参考文献:

- [1] 中国药典 2005 年版. 二部[S]. 2005:436.
- [2] 王瑜真、孙成春、俞学忠. 凝胶剂的研制现状[J]. 实用医药杂志, 2003, 20(8): 626.

收稿日期:2006-01-25

仙鹤草提取物镇痛抗炎试验的实验研究

龚纯贵,张国庆,王希营,雷彦辉(第二军医大学东方肝胆外科医院药剂科,上海 200438)

摘要 目的:初步探讨中药仙鹤草提取物的镇痛抗炎作用。方法:取仙鹤草的水提取物和乙醇提取物,应用醋酸致小鼠扭体法、小鼠热板法、二甲苯致小鼠耳廓肿胀法和大鼠角叉菜胶足跖肿胀法研究其镇痛抗炎作用。结果:仙鹤草乙醇提取物和水提取物可减少醋酸致小鼠扭体次数,延长小鼠舔足时间,减轻二甲苯致小鼠耳廓肿胀程度,减小角叉菜胶致足跖肿胀程度;乙醇提取物作用强于水提取物。结论:中药仙鹤草乙醇提取物具有明显的镇痛抗炎作用。

关键词 仙鹤草;提取物;镇痛;抗炎

中图分类号:R965 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2006)06-0339-04

Experimental studies of anti-inflammatory and analgesic effects of extract from *Herba agrimoniae*

GONG Chun-gui, ZHANG Guo-qing, WANG Xi-ying, LEI Yan-hui (Department of Pharmacy, Eastern Hospital of Hepatobiliary Surgery, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

作者简介:龚纯贵(1973-),男,主管药师. E-mail:aquea514@126.com.