

· 论著 ·

高效液相色谱法测定克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松含量

常明泉, 陈林, 何秀丽, 陈芳 (湖北医药学院附属太和医院, 湖北 十堰 442000)

[摘要] 目的 测定克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松的含量。方法 用高效液相色谱法, 色谱柱为 C_{18} 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (80 : 20 : 0.5); 检测波长为 240 nm; 进样量 20 μ l; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流速 1 ml/min。结果 醋酸地塞米松在 2.00 ~ 64.00 μ g/ml 范围内线性关系良好, $Y=0.4052X+0.8042$ ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.3%, $RSD=0.93\%$ ($n=9$)。结论 该法便捷, 重现性好, 适用于克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松的含量测定。

[关键词] 克拉维丁搽剂; 醋酸地塞米松; 高效液相色谱法

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)01-0055-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.01.014

Determination of dexamethasone acetate in Kelaweiding liniment by HPLC

CHANG Mingquan, CHEN Lin, HE Xiuli, CHEN Fang (Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical College, Shiyan 442000, China)

[Abstract] **Objective** To establish the quantitative determination method of dexamethasone acetate in Kelaweiding liniment by HPLC. **Methods** Column: Diamonsil- C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m), mobile phase: methanol-water-glacialacetic acid (80 : 20 : 0.5), flow rate: 1.0 ml/min, UV detection wavelength: 240 nm, injection volume : 20 μ l, column temperature: 30 $^{\circ}$ C. **Results** The standard curve was linear within the range of 2.00-64.00 μ g/ml, linear equation was $Y=0.4052X+0.8042$ ($r=0.9999$). The average recovery was 99.3% with $RSD 0.93\%$ ($n=9$). **Conclusion** This method was simple, stable and could be used to assay dexamethasone acetate in Kelaweiding liniment.

[Key words] Kelaweiding liniment; dexamethasone acetate; HPLC

克拉维丁搽剂是湖北医药学院附属太和医院的一个在研新制剂^[1], 该制剂内含克拉霉素、维生素 B_2 、醋酸地塞米松、盐酸丁卡因, 具有抗菌消炎、止痛、促进溃疡愈合的作用。用于新生儿科肛门、腋窝部位皮肤溃破、红肿, 也用于口腔科由于病毒感染、免疫力低下或缺乏维生素等原因引起的多种内源性口腔溃疡疾病。醋酸地塞米松是肾上腺皮质激素类药物, 具有抗炎和免疫抑制作用, 能抑制结缔组织的增生、降低毛细血管壁和细胞膜的通透性、减少炎性渗出量、抑制组胺及其他毒性物质的形成和释放、促进溃疡愈合的作用。制剂中的维生素 B_2 、克拉霉素、盐酸丁卡因可按文献^[2~4]方法测定。为了全面控制制剂质量、确保临床疗效及用药安全有效, 本测定

拟用高效液相色谱法, 对制剂中的醋酸地塞米松进行含量测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 戴安 U-3000 型高效液相色谱仪 (美国戴安公司); UP5200HE 超声仪 (熊猫集团南京电子计量有限公司, 500 W, 50 Hz); AYW-1200 电子天平 (日本岛津, 精度: 0.000 01 g); WGA-UNI-10 型超纯水器 (北京普析通仪器有限责任公司, 功率: 300 W)。

1.2 试剂 醋酸地塞米松对照品 (中国药品生物制品研究院, 批号 100122-200805, 含量 100.0%); 克拉维丁搽剂 (湖北医药学院附属太和医院制备, 规格: 100 ml, 批号: 20130410, 20130411, 20130412), 冰醋酸为分析纯, 甲醇分别为分析纯和色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[5-7] 色谱柱 C_{18} 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (80 : 20 : 0.5); 检测波长 240 nm; 进样量 20 μ l, 流速

[基金项目] 湖北省重大科学技术鉴定成果 (登记号: EK2012D150018000359); 太和科研基金资助项目 (2009D34)

[作者简介] 常明泉, 学士, 副主任药师。研究方向: 制剂及质量控制。Tel: 13986912958; E-mail: 907622985@qq.com

[通讯作者] 陈林, 博士, 教授。研究方向: 中草药化学。Tel: 13986912958; E-mail: 907622982@qq.com

1 ml/min,柱温 30 ℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取醋酸地塞米松对照品 7.50 mg,置 50 ml 容量瓶中,加甲醇溶解、定容,即得 0.15 mg/ml 对照品储备液,精密吸取该溶液 1 ml于 10 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 15.00 μg/ml 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 称取克拉维丁搽剂样品 2 g 于烧杯内,加甲醇约 10 ml,置超声震荡仪上超声约 5 min,溶液转移至 25 ml 容量瓶内,再分 2 次加甲醇(每次 6 ml)于烧杯中超声 2 min,集中洗涤液于容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,静置 1 h,用适宜注

射器抽取上清液,然后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 称取不含醋酸地塞米松的克拉维丁搽剂 2 g 于烧杯内,按供试品溶液的制备方法制备,即得。

2.3 系统适用性试验 分别取“2.2”项下的各溶液 20 μl,在“2.1”色谱条件下进样,记录色谱图,理论塔板数按醋酸地塞米松峰计算应不低于 3 500,对照品、样品吸收峰与相邻杂质峰的分离度分别为 1.80、1.78(均>1.50),拖尾因子为 0.98。结果除阴性样品溶液外,对照品溶液、供试品溶液在同一时间均有同样色谱峰出现,结果见图 1。

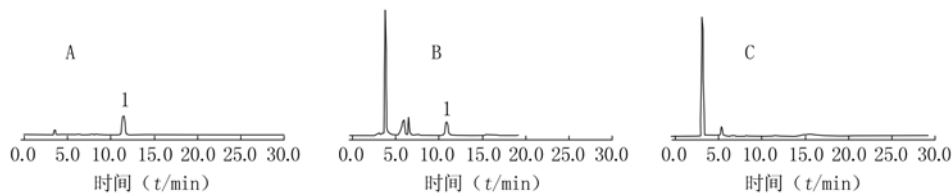


图 1 醋酸地塞米松高效液相色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性溶液; 1. 醋酸地塞米松吸收峰

2.4 曲线方程的建立 取醋酸地塞米松对照品适量,加甲醇制备成每毫升含醋酸地塞米松 2.00、4.00、8.00、16.00、32.00、64.00 μg 的溶液,取上述各溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,在“2.1”色谱条件下进样,以浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标进行线性回归,得回归方程为: $Y=0.4052X+0.8042$, $r=0.9999$,醋酸地塞米松在 2.00~64.00 μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取“2.2”项下的对照品溶液,在“2.1”色谱条件下连续进样 5 次,记录峰面积值,均值为 4.172 3, RSD 为 0.75%,说明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取“2.2”项下的供试品溶液,在“2.1”色谱条件下分别在 0、3、6、12、24 h 进样,记录峰面积值,均值为 4.160 8, RSD 为 1.91%,说明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 平行称取 5 份样品(批号 20130410),每份 2 g 于烧杯中,按“2.2”中供试品溶液项下的方法制备溶液,在“2.1”色谱条件下进样,测定峰面积值,计算含量,结果测得平均含量为 0.147% (mg/g), RSD 为 1.98%,表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 称取不含醋酸地塞米松的克拉维丁搽剂 2 g 于烧杯中,共 9 份,每 3 份 1 组,分别按低、中、高比例各加入浓度适宜的对照品溶液适量,按“2.2”中供试品溶液的制备方法制备溶液,

在“2.1”色谱条件下进样,测定峰面积值,计算回收率,见表 1。

表 1 克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松加样回收率试验结果 (n=9)

样品编号	对照品加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
1	0.235	0.232	98.7		
2	0.235	0.231	98.3		
3	0.235	0.234	99.6		
4	0.294	0.293	99.7		
5	0.294	0.297	101.0	99.3	0.93
6	0.294	0.289	98.3		
7	0.353	0.348	98.7		
8	0.353	0.351	99.2		
9	0.353	0.354	100.3		

2.9 含量测定 取样品 3 批,各称取 2 g 于烧杯中,按“2.2”中供试品溶液的制备方法制备溶液,在“2.1”色谱条件下进样,测定峰面积,按外标法计算醋酸地塞米松的含量,结果见表 2。

表 2 克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松含量测定结果 (n=3)

样品批号	含量 (ω_B /mg · g ⁻¹)	RSD (%)
20130410	0.147	1.29
20130411	0.145	1.71
20130412	0.145	1.37

3 讨论

3.1 超声利于醋酸地塞米松溶出 克拉维丁搽剂是以白及溶胶为分散介质的一种制剂,各种药物均以粉末状分散于白及溶胶中,制备供试液时为了充分保证涂剂中醋酸地塞米松的检出,取样后先加入适量甲醇在超声仪上超声约5 min,随后分次加入甲醇超声洗涤烧杯,以使醋酸地塞米松能够从样品中充分提取、溶解。

3.2 析出多糖减小黏附性 克拉维丁搽剂由多种成分组成,其中的白及溶胶具有一定的黏性^[8],多糖是水溶性物质,不溶于甲醇,加入甲醇经超声醋酸地塞米松溶解后,多糖被析出沉淀,用微孔滤膜抽取上清液过滤时则可拦截漂移的沉淀物,减小对色谱柱的黏附性。

3.3 优选流动相缩短保留时间 试验时曾参考文献方法^[5-7]分别以乙腈-水(40:60)、甲醇-水(66:34)为流动相检测,在40 min的相同保留时间内,前者检出率只有86.4%,后者检出率为96.7%,两者在后续进样时在醋酸地塞米松出峰前均有一较大的杂质峰出现,影响分离效果。后来配制甲醇-水-冰醋酸(80:20:0.5)做流动相,使用该流动相检测时平均回收率达到99.3%,峰型对称,无拖尾现象,样

品分离度良好,说明该流动相对样品中醋酸地塞米松洗脱效果好,并能较好地克服样品中因少许多糖的存在保留时间过长的现象。该方法用于克拉维丁搽剂中醋酸地塞米松的含量测定,操作便利、专属性强,结果重现性好。

【参考文献】

- [1] 常明泉,余学英,王正军,等.维地西林涂剂的制备与质量控制[J].儿科药科学杂志,2012,18(11):40-42.
- [2] 韩秀梅.HPLC法测定复合维生素B片中维生素B₁、B₂、B₆的含量[J].中国药事,2012,26(8):891-894.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:316.
- [4] 湖北省食品药品监督管理局.湖北省医疗机构制剂质量汇编(上册)[Z].2009:295-296.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:1120-1121.
- [6] 陈红,朱蓉.复方地塞米松夫西地酸乳膏含量测定[J].中国抗生素杂志,2012,37(12):924-924.
- [7] 黄波,姜武民,吉祥波.复方醋酸地塞米松乳膏含量测定方法的改进[J].实用药物与临床,2011,14(4):311-312.
- [8] 陈芳,常明泉,杜士明,等.不同浓度蒽酮-硫酸试液对白及溶胶含量的影响[J].中国药师,2012,15(11):1604-1605.

[收稿日期] 2014-01-24 [修回日期] 2014-05-23
[本文编辑] 顾文华

(上接第54页)

3.2 大孔吸附树脂条件的优化 乌金胶囊由乌骨藤、郁金、黄芪、延胡索、山楂五味中药组成,成分复杂,杂质干扰较大,D-101大孔吸附树脂是一种聚苯乙烯型非极性树脂,在黄酮的纯化方面已有较多报道。文献表明,其对黄酮类化合物的吸附性能和解吸性能都较好^[6]。故本实验选取该树脂对乌金胶囊中毛蕊异黄酮成分进行富集,分别用30%、50%、70%、95%的乙醇解吸,结果70%的乙醇可以将毛蕊异黄酮完全洗脱下来,因此选取70%的乙醇作为洗脱液。D-101大孔吸附树脂技术具有重复性高、杂质干扰小、有效成分富集明显等优点,可以作为分离、纯化黄酮类化合物的一种有效方法。

3.3 提取溶剂和流动相的选择 笔者以毛蕊异黄酮的含量为指标来选择提取溶剂,采用超声法分别对甲醇、乙醇进行考察,结果表明甲醇的提取效率较高;笔者又分别考察了乙腈-水系统、甲醇-水系统,结果表明,液相条件为乙腈-水(含0.1%甲酸)梯度洗脱,检测波长为260 nm时,系统基线稳定,分离效果良好,图谱各峰峰形较好,灵敏度高。

3.4 样品测定结果 目前对一年半内6批乌金胶

囊中毛蕊异黄酮含量进行测定,结果发现不同批次间含量有一定的差异,可能与黄芪药材采收时间有关联,有必要进行长期的追踪考察,为进一步完善乌金胶囊的质量标准提供依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:283-284.
- [2] 贺云彪,黄兰芳,胡伟,等.高效液相色谱测定黄芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量[J].光谱实验室,2010,27(4):1541-1545.
- [3] 林青,李媛,谭晓梅,等.LC-MS/MS同时测定大鼠血浆中黄芪成分芒柄花素、毛蕊异黄酮和异鼠李素的浓度及其药动学研究[J].中药材,2013,36(4):589-593.
- [4] Chen J, Zhao XG, Ye Y, et al. Estrogen receptor beta-mediated proliferative inhibition and apoptosis in human breast cancer by calycosin and formononetin[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32(6):1790-1797.
- [5] Xu YH, Xiong JF, Wang SS, et al. Calycosin entered HUVECs and ameliorated AGEs-promoted cell apoptosis via the Bcl-2 pathway[J]. J Nat Med, 2014, 68(1):163-172.
- [6] 谢娟平. D101大孔树脂纯化犁头草黄酮的研究[J].陕西农业科学, 2010, 56(5):61-63.

[收稿日期] 2014-01-27 [修回日期] 2014-04-11
[本文编辑] 顾文华