

鼻可灵喷雾剂中地塞米松磷酸钠、氧氟沙星及盐酸麻黄碱含量的微乳液相色谱法测定

贺 帅, 张忠义, 张守尧

(南方医科大学 珠江医院 药剂科, 广东 广州 510282)

摘 要: 建立了复方鼻可灵喷雾剂中 3 组分的微乳液相色谱 (MELC) 测定方法, 并考察了其影响因素。以微乳 (33 g/L SDS - 1.2% (体积分数) 正辛烷 - 9% (体积分数) 正丁醇 - 0.5% (体积分数) 三乙胺, 磷酸调 pH 至 3) 为流动相, 采用 Hypersil BDS C₁₈ 5 μ m (4.6 mm $\times$ 150 mm) 色谱柱, 检测波长 256 nm。实验发现, 被测组分地塞米松磷酸钠、氧氟沙星及盐酸麻黄碱的线性范围和相关系数分别为 0.01~0.04 g/L, $r=0.999\ 9$; 0.1~0.3 g/L, $r=0.999\ 9$; 0.2~0.6 g/L, $r=0.999\ 9$ 。对应的平均回收率和 RSD ($n=5$) 分别为 97%, 2.55%; 101%, 0.45%; 101%, 0.54% ($n=5$)。

关键词: 地塞米松磷酸钠; 氧氟沙星; 盐酸麻黄碱; 微乳液相色谱法; 鼻可灵喷雾剂

中图分类号: O657.7; R944.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2008)06-0654-03

Determination of Dexamethasone Sodium Phosphate, Ofloxacin and Ephedrine Hydrochloride in BiKeling Nasal Spray by Microemulsion Liquid Chromatography

HE Shuai, ZHANG Zhong-yi, ZHANG Shou-yao

(Department of Pharmacy, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China)

Abstract: A method for the determination of dexamethasone sodium phosphate, ofloxacin, ephedrine hydrochloride in BiKeling nasal spray by microemulsion liquid chromatography (MELC) was established and its influential factors were discussed. The analytical column was Hypersil BDS C₁₈ 5 μ m (4.6 mm $\times$ 150 mm), with column temperature of 30 $^{\circ}$ C. The mobile phase was microemulsion consisting of 33 g/L SDS, 9% (by volume) butanol, 1.2% (by volume) octane and 0.5% TEA (by volume), adjusting pH = 3 with phosphate acid, flow rate was 1.0 mL/min and detection wavelength was 256 nm. The calibration curves were linear in the ranges of 0.01 - 0.04 g/L for dexamethasone sodium phosphate, 0.1 - 0.3 g/L for ofloxacin and 0.2 - 0.6 g/L for ephedrine hydrochloride with $r=0.999\ 9$. The average recoveries and RSD were 97% and 2.55%, 101% and 0.45%, 101% and 0.54%, respectively.

Key words: dexamethasone sodium phosphate; ofloxacin; ephedrine hydrochloride; microemulsion liquid chromatography (MELC); BiKeling nasal spray

微乳色谱 (MELC) 分析在国外较早就有研究报道^[1-3], 但国内至今未见报道。与常规的 HPLC 方法相比, MELC 具有分离效率高和分离速度快的优越性, 可进行复杂样品的分离; 有些在水中不溶解的样品在微乳中可以溶解进而进行分析; 在进行血清、尿液中药物浓度分析时, 可直接用微乳稀释进样, 无需预处理; O/W 型微乳作为流动相在等度洗脱和梯度洗脱^[4]中还可以使用低紫外末端吸收波长 (190 nm) 进行无生色团的分析^[5-8]。关于地塞米松磷酸钠、氧氟沙星及盐酸麻黄碱 3 组分同时测定的方法, 目前未见文献报道, 此前本课题组采用高效液相色谱 (HPLC) 法测定了其中氧氟沙星和盐酸麻黄碱的含量^[9], 用另外的色谱条件测定了其中地塞米松磷酸钠的含量。1 个制剂采用 2 个色谱条件控制质量, 费时费力。本文采用 MELC 法同时测定了鼻可灵喷雾剂中 3 种组分的含量, 方法简便、峰形好、出峰时间短, 结果满意。

收稿日期: 2007-09-28; 修回日期: 2008-02-22

基金项目: 广东省医院药学研究基金资助项目 (2008A002)

第一作者: 贺 帅 (1983-), 男, 湖南长沙人, 硕士研究生

通讯作者: 张守尧, Tel: 020-61643554, E-mail: shouyaozhang@yahoo.com.cn

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), 配二极管阵列检测器及化学工作站; 三乙胺 (TEA) 和十二烷基硫酸钠 (SDS) 为化学纯 (广东省汕头市西陇化工厂), 其他试剂均为分析纯; 对照品地塞米松磷酸钠、氧氟沙星、盐酸麻黄碱由中国药品生物制品检验所提供, 其余辅料均为药用规格; 鼻可灵喷雾剂由本制剂室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液制备 微乳流动相制备: 取 33 g SDS, 加入约 800 mL 0.5% (体积分数) 的 TEA 水溶液中, 搅拌至完全溶解, 再加入 90 mL 正丁醇和 12 mL 正辛烷, 最后加入 0.5% (体积分数) TEA 稀释至 1 000 mL, 超声 15 min 至形成澄清透明液体溶液, 即得微乳, 用磷酸调节 pH 至 3, 0.45 μm 滤膜过滤, 备用。

混合对照品溶液的制备: 取对照品盐酸麻黄碱约 0.2 g、氧氟沙星约 0.1 g、地塞米松磷酸钠约 0.012 g, 精密称定, 置同一 50 mL 量瓶中, 加 20 mL 水振摇, 使盐酸麻黄碱和地塞米松磷酸钠溶解, 再滴加 3~5 滴乙酸, 使氧氟沙星溶解完全, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL 置 50 mL 容量瓶中, 流动相稀释至刻度, 作为混合对照品溶液, 摇匀, 备用。

1.2.2 色谱条件 色谱柱为 Hypersil BDS C_{18} 5 μm (4.6 mm $\times$ 150 mm) 柱; 流动相为微乳 (33 g/L SDS - 1.2% (体积分数) 正辛烷 - 9% (体积分数) 正丁醇 - 0.5% (体积分数) 三乙胺, 磷酸调 pH 3), 流速 1 mL/min; 检测波长 256 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。在此条件下, 混合对照液及样品的色谱图如图 1。

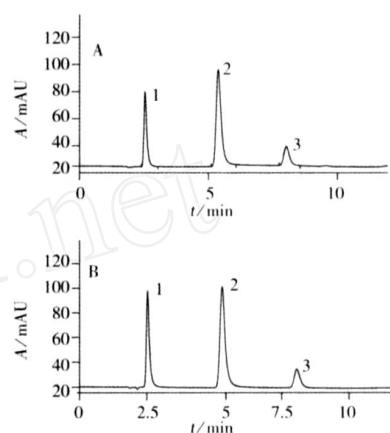


图 1 混合对照品 (A) 及样品 (B) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of reference substances (A) and sample (B)
1. dexamethasone sodium phosphate (地塞米松磷酸钠); 2. ofloxacin (氧氟沙星); 3. ephedrine hydrochloride (盐酸麻黄碱)

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 线性关系考察 取混合对照品溶液, 按“1.2.2”色谱条件, 分别进样 5、8、10、12、15 μL , 每个进样量重复 3 次, 以质量浓度 $\rho(\text{g/L})$ 为横坐标, 峰面积的平均值 A 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程如下: 地塞米松磷酸钠: $A = 2.04 \times 10^4 \rho_1 + 4.51$, $r = 0.9999$; 氧氟沙星: $A = 5.68 \times 10^3 \rho_2 - 23.23$, $r = 0.9999$; 盐酸麻黄碱: $A = 610.57 \rho_3 - 3.84$, $r = 0.9999$ 。

结果表明地塞米松磷酸钠 (0.01~0.04 g/L), 氧氟沙星 (0.1~0.3 g/L), 盐酸麻黄碱 (0.2~0.6 g/L) 在各自的质量浓度范围内与峰面积的线性关系均较好。

2.1.2 回收率实验 精密量取模拟样品液 2 mL 置于 50 mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 取 10 μL 进样测定 ($n=3$), 按回归方程求得 3 个组分的回收率。其对应的平均回收率和 RSD ($n=5$) 分别为 97%, 2.55%; 101%, 0.45%; 101%, 0.54%。

2.1.3 精密度与稳定性 取混合对照液 10 μL 重复进样 10 次, 得地塞米松磷酸钠、氧氟沙星和盐酸麻黄碱 3 组分峰面积的 RSD ($n=10$) 值分别为 0.81%、0.75% 和 0.49%, 表明本方法有良好的重复性。

取 1 份模拟样品作为供试品溶液, 稀释后, 8 h 内每隔 1 h 进样 1 次, 每次进样 10 μL 得地塞米松磷酸钠、氧氟沙星和盐酸麻黄碱 3 组分峰面积的 RSD ($n=9$) 值, 分别为 0.54%、0.77% 和 0.52%, 表明被测溶液常温下放置 8 h 内稳定。

2.1.4 样品测定 取生产批号为 060711、070403、070620 的样品进行测定, 3 批样品中地塞米松磷酸钠、氧氟沙星和盐酸麻黄碱含量 (用标示量 % 表示) 分别为 81.2%、90.2%、103.1% (批号: 060711); 100.1%、100.7%、100.1% (批号: 070403); 99.6%、101.4%、98.8% (批号: 070620)。

2.2 讨论

2.2.1 表面活性剂与助表面活性剂浓度的影响 微乳流动相中 SDS 在 25~45 g/L 范围内变化时, 随着

SDS含量的增加,组分 2、3 的分离度增大,保留时间相应缩短,当为 33 g/L 时,分离结果最理想。

改变助表面活性剂的含量可以改变保留时间,考察了正丁醇在 6%~15% (体积分数)变化时对分离结果的影响。实验发现,随着正丁醇含量的增加,组分 2、3 的保留时间慢慢缩短,当正丁醇含量超过 12% (体积分数)时,保留时间又开始增加,可能是由于正丁醇含量较低时,助表面活性剂分布在胶束液滴与表面活性剂分子之间,当含量增加到一定程度时,不再进入液滴中而溶解在流动相水中。

2.2.2 pH 值的影响 在微乳中,使用磷酸调节流动相 pH 3~9,实验发现, pH 3 时可以实现 3 组分完全分离且分离时间最短。

2.2.3 油相含量的影响 通过考察正辛烷含量 0%~0.9% (体积分数)对分离结果的影响发现,不同浓度的油相对 3 组分的保留时间和分离度基本无影响,但油相的存在使得盐酸麻黄碱保留时间明显变短。

2.2.4 油相种类的影响 改变微乳油相可以改变疏水性物质的保留时间及其分离选择性,分别考察了正戊烷、正辛烷、乙酸乙酯、正庚烷和正己烷为油相时,对分离结果的影响,见图 2。由图 2 知,盐酸麻黄碱和氧氟沙星的保留时间变化较明显,而地塞米松磷酸钠的保留时间改变很小,以正辛烷为油相时分离时间最短且 3 组分完全分离。

实验中为消除氧氟沙星拖尾,尝试流动相中添加 0.05 mol/L 四丁基溴化铵溶液^[10]; 10 mmol/L 溴化铵、25 mmol/L 柠檬酸^[11]; 0.2%~1% (体积分数)的三乙胺,结果发现,四丁基溴化铵能够明显使氧氟沙星的峰形变窄,但未能明显地消除拖尾;在柠檬酸存在的条件下,拖尾基本消除,但最后出峰时间延长到 11.5 min; 三乙胺能使峰形变窄,拖尾明显减轻,其中以 0.5% (体积分数)的效果最佳。

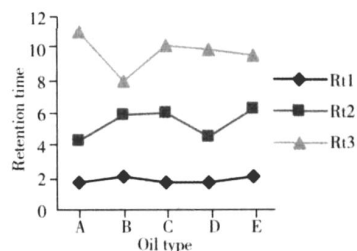


图 2 油相种类对保留时间的影响

Fig. 2 Effect of organic solvents in the microemulsion on retention time
A, B, C, D, E were pentane, octane, acetone, acetate, heptane and hexane, respectively; R1, R2, R3 were retention times for dexamethasone sodium phosphate, ofloxacin, ephedrine hydrochloride, respectively

参考文献:

- [1] BERTHOD A, NICOLASO, PORTHAULT M. Water in oil microemulsions as mobile phase in liquid chromatography[J]. Anal Chem, 1990, 62(14): 1402 - 1407.
- [2] BERTHOD A, DE CARVALHO M. Oil in water microemulsions as mobile phases in liquid chromatography[J]. Anal Chem, 1992, 64(19): 2267 - 2272.
- [3] BERTHOD A, LASERNA J J, CARRETERO I. Oil - in - water microemulsions as mobile phases for rapid screening of illegal drugs in sports[J]. J Lip Chromatogr, 1992, 15(17): 3115 - 3127.
- [4] MARSH A, CLARK B, ALTRA K. Oil - in - water microemulsion high performance liquid chromatographic analysis of pharmaceuticals[J]. Chromatographia, 2004, 59(9/10): 534 - 542.
- [5] MALENOVIC A, MANOVIC D, MEDENICA M, et al. Retention modelling in liquid chromatographic separation of simvastatin and six impurities using a microemulsion as eluent[J]. J Sep Sci, 2004, 27(13): 1087 - 1092.
- [6] JANCIC B, MANOVIC D, MEDENICA M, et al. Development of liquid chromatographic method for fosinopril determination in human plasma using microemulsion as eluent[J]. J Chromatogr: A, 2005, 1088(1/2): 187 - 192.
- [7] MALENOVIC A, MANOVIC D, MEDENICA M, et al. Influence of structural and interfacial properties of microemulsion eluent on chromatographic separation of simvastatin and its impurities[J]. J Chromatogr: A, 2006, 1131: 67 - 73.
- [8] WALASH M I, BELAL F, EL - ENANY N, et al. Microemulsion liquid chromatographic determination of nicardipine hydrochloride in pharmaceutical preparations and biological fluids application to stability studies[J]. J of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2007, 30: 1015 - 1034.
- [9] 吴朝晖, 张守尧, 邓葛峰, 等. HPLC测定鼻可灵喷雾剂中氧氟沙星和盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国现代应用药学, 1998, 15(2): 54.
- [10] CHAN K P, CHU K O, LAI W K, et al. Determination of ofloxacin and moxifloxacin and their penetration in human aqueous and vitreous humor by using high-performance liquid chromatography fluorescence detection[J]. Analytical Biochemistry, 2006, 353(1): 30 - 36.
- [11] SHERVINGTON L A, ABBA M, HUSSAIN B. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005, 39(3/4): 769 - 775.