

HPLC 法同时测定复方水杨酸溶液中四组分的含量

范菲, 刘鹏鸣, 李锋武, 黄洁, 单敏

(西安市食品药品检验所, 西安 710054)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法同时测定复方水杨酸溶液中四组分含量的方法。方法: 采用 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 磷酸三乙胺溶液(取三乙胺 4 mL, 加水至 1000 mL, 用磷酸调 pH 2.5) - 甲醇(45:55) 为流动相; 检测波长为 220 nm; 流速为 1.0 mL · min⁻¹。结果: 水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯分别在 0.1378 ~ 0.6980 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$)、0.03414 ~ 0.1707 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$)、0.0346 ~ 0.173 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$)、0.0395 ~ 0.1975 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$) 范围内线性关系良好, 3 个浓度组间水杨酸平均回收率分别为 99.62% (RSD = 0.91%)、100.27% (RSD = 0.53%)、99.00% (RSD = 0.09%)、间苯二酚平均回收率分别为 102.02% (RSD = 0.97%)、101.22% (RSD = 0.63%)、98.32% (RSD = 0.03%)、苯酚平均回收率分别为 99.27% (RSD = 0.84%)、101.67% (RSD = 0.46%)、101.79% (RSD = 0.15%)、水杨酸甲酯的平均回收率分别为 99.87% (RSD = 0.94%)、102.09% (RSD = 0.67%)、102.59% (RSD = 0.31%)。结论: 本方法简便、快速、准确, 为复方水杨酸溶液的质量控制提供了可靠方法。

关键词: 复方水杨酸溶液; 水杨酸; 间苯二酚; 苯酚; 水杨酸甲酯; HPLC

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011)11 - 2185 - 03

HPLC determination of four components in compound salicylic acid solution

FAN Fei¹, LIU Peng - ming, LI Feng - wu, HUANG Jie, SHAN Min

(Xi'an institute for Food and Drugs Control, Xi'an 710054, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the determination of four components in compound salicylic acid solution at the same time. **Method:** The Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used, the mobile phase consisted of triethylamine phosphate (take triethylamine 4 mL, adding water to 1000 mL, adjust pH to 2.5 with phosphoric acid) - methanol = (45:55), the detection wavelength was 220 nm, the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **Results:** The linearity in the range for salicylic acid, resorcinol, phenol and methyl salicylate were respectively 0.1378 - 0.6980 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$), 0.03414 - 0.1707 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$), 0.0346 - 0.173 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$), 0.0395 - 0.1975 mg · mL⁻¹ ($r = 1.0000$), and the average recoveries ($n = 3$) were respectively 99.62% (RSD = 0.91%), 100.27% (RSD = 0.53%), 99.00% (RSD = 0.09%); 102.02% (RSD = 0.97%), 101.22% (RSD = 0.63%), 98.32% (RSD = 0.03%); 99.27% (RSD = 0.84%), 101.67% (RSD = 0.46%), 101.79% (RSD = 0.15%); 99.87% (RSD = 0.94%), 102.09% (RSD = 0.67%), 102.59% (RSD = 0.31%). **Conclusions:** The method was found to be simple and accurate for simultaneous analysis of the content of 4 components in compound salicylic acid solution and provided a reliable way for the quality control.

Key words: compound salicylic acid solution; salicylic acid; resorcinol; phenol; methyl salicylate; HPLC

复方水杨酸溶液是化学药品地方标准上升国家标准的品种, 为复方制剂, 其中所含水杨酸具有止痛、溶解角质及抗真菌作用; 苯酚与间苯二酚具有抗菌作用; 水杨酸甲酯具有消炎、止痒、消肿及止痛作用, 用于手癣、足癣、体癣、股癣。原标准只控制了水

杨酸的含量, 也有资料采用氧化还原法^[1]、双波长回归法^[2]和高效毛细管电泳法^[3-4]测定水杨酸和间苯二酚, 关于同时测定水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯四组分的方法, 作者未见文献报道。本实验首次建立了同时测定水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨

第一作者 Tel: (029) 85515544; E-mail: fanfei27@yahoo.com.cn

酸甲酯四组分的 HPLC 法,为复方水杨酸溶液的质量控制提供了较为可靠的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 戴安 ULTIMATE U-3000 型 HPLC,普析通用 TU-1901 紫外-可见分光光度计, Sartorius BSA124S-CW 型千分之一电子天平,北京光学仪器厂 WT-2A 型万分之一机械天平。

1.2 试剂 复方水杨酸溶液(无锡华奥药业有限公司,批号:100401;上海运佳黄浦制药有限公司,批号:100801、100802、100803),水杨酸、间苯二酚、苯酚及水杨酸甲酯对照品(均由中检所提供,批号:100106-200303、100509-200902、100389-200301、110707-201011);甲醇(色谱纯,Merck 公司),水为三蒸水(自制),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试液的制备

2.1.1 对照品溶液 分别精密称取水杨酸对照品 0.1378 g,置 50 mL 量瓶中,间苯二酚对照品 34.14 mg,置 50 mL 量瓶中,苯酚对照品 34.60 mg,置 50 mL 量瓶中,水杨酸甲酯对照品 39.50 mg,置 50 mL 量瓶中,分别加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密量取上述储备液各 12.5 mL,置 50 mL 量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液 精密量取供试品溶液 1 mL,置 200 mL 量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm 5 μm);流动相为磷酸三乙胺溶液(取三乙胺 4 mL,加水至 1000 mL,用磷酸调 pH 2.5)-甲醇(45:55);检测波长为 220 nm;柱温为室温;流速为 1.0 mL · min⁻¹;进样量为 10 μL。以上 4 种溶液按上述色谱条件进样测定,测定峰面积用外标法计算各组分含量。结果 4 组分峰的理论板数均在 4500 以上,分离度均大于 1.5。空白试验无干扰,色谱图见图 1。

2.3 线性关系 分别精密量取对照品溶液 2、4、6、8 mL 置 10 mL 量瓶中,加乙醇稀释至刻度,照上述色谱条件进样 10 μL,记录色谱数据,以峰面积 Y 对浓度 X 进行线性回归处理,得水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯回归方程分别为:

$$Y = 24018505.80552X - 10222.26 \quad r = 1.0000$$

$$Y = 33816452.84124X + 89722.38 \quad r = 1.0000$$

$$Y = 28664612.71676X + 24949.02 \quad r = 1.0000$$

$$Y = 18974745.56962X + 3307.85 \quad r = 1.0000$$

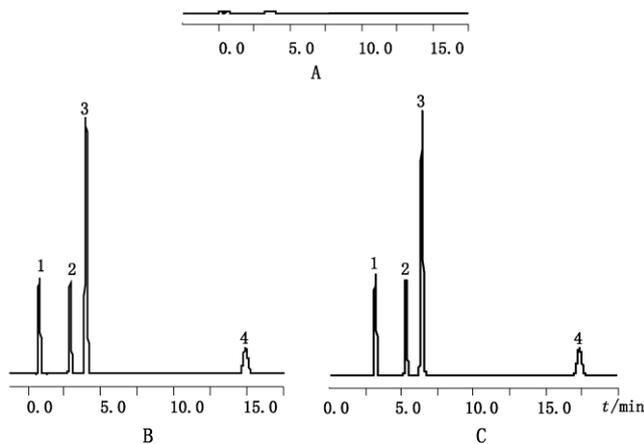


图1 空白溶液(A)、对照品溶液(B)、供试品溶液(C)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of blank solution (A), reference solution (B), the test solution (C)

1. 间苯二酚(resorcinol) 2. 苯酚(phenol) 3. 水杨酸(salicylic) 4. 水杨酸甲酯(methyl salicylate)

线性范围分别为: 0.1378 ~ 0.6980 mg · mL⁻¹; 0.03414 ~ 0.1707 mg · mL⁻¹; 0.0346 ~ 0.173 mg · mL⁻¹; 0.0395 ~ 0.1975 mg · mL⁻¹。

2.4 精密度试验 在上述色谱条件下,取同一对照品溶液,重复进样 5 次,4 种组分的 RSD 分别为 0.33%、0.23%、0.34% 和 0.32%。

2.5 重复性试验 取同一批号样品 5 份,在上述色谱条件下测定,水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯的含量(合标示量)分别为 99.86% (RSD = 0.5%)、101.3% (RSD = 0.5%)、103.0% (RSD = 0.5%)、91.35% (RSD = 0.5%),表明重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(100401),按上述色谱条件于 0、2、4、8、12 h 进样测定峰面积, RSD 均小于 0.5%,结果表明水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯在 12 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验 精密量取已知含量的供试品溶液(100401) 0.5 mL 置 200 mL 量瓶中,分别加入混合对照溶液(间苯二酚、苯酚、水杨酸、水杨酸甲酯的浓度分别为 2.02、1.99、7.99、1.73 mg · mL⁻¹) 各 3、5、7 mL 各 3 份,以乙醇溶解并稀释至刻度,按上述色谱条件进行测定,3 个浓度组间水杨酸平均回收率分别为 99.62% (RSD = 0.91%)、100.27% (RSD = 0.53%)、99.00% (RSD = 0.09%),间苯二酚平均回收率分别为 102.02% (RSD = 0.97%)、101.22% (RSD = 0.63%)、98.32% (RSD = 0.03%),苯酚平均

回收率分别为 99.27% (RSD = 0.84%)、101.67% (RSD = 0.46%)、101.79% (RSD = 0.15%)。水杨酸甲酯的平均回收率分别为 99.87% (RSD = 0.94%)、102.09% (RSD = 0.67%)、102.59% (RSD = 0.31%)。

2.8 样品含量测定 精密量取不同批号复方水杨酸溶液在上述色谱条件下每批测定 5 次,计算出水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯的含量 结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果(n = 5)

Tab 1 Assay of the samples

批号 (Lot No.)	水杨酸(salicylic)		间苯二酚(resorcinol)		苯酚(phenol)		水杨酸甲酯(methyl salicylate)	
	平均含量 (mean) /%	RSD /%	平均含量 (mean) /%	RSD /%	平均含量 (mean) /%	RSD /%	平均含量 (mean) /%	RSD /%
100401	98.70	0.52	100.05	0.51	101.65	0.51	90.40	0.43
100801	106.04	0.25	105.25	0.24	104.64	0.22	117.70	0.19
100802	106.10	0.26	105.05	0.26	104.55	0.25	117.20	0.30
100803	107.00	0.42	106.25	0.42	106.35	0.37	117.35	0.34

3 讨论

3.1 波长的选择 本实验将水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯在 220 ~ 400 nm 波长处进行了光谱扫描,水杨酸的最大吸收波长为 235,303 nm,间苯二酚的最大吸收波长为 276 nm,苯酚的最大吸收波长为 272 nm,水杨酸甲酯的最大吸收波长为 238,303 nm,参考有关文献^[5-8],对比 212,220,231,278 nm 等波长处的色谱图,综合各组分的吸收情况选择 220 nm 作为检测波长比较理想。

3.2 流动相的考察 本实验比较水 - 甲醇(45:55),水(含 0.5% 冰醋酸) - 甲醇(50:50),磷酸三乙胺溶液(取三乙胺 4mL,加水至 1000 mL,用磷酸调 pH 2.5) - 甲醇(45:55),水 - 甲醇 - 乙腈(10:30:60) 等条件,比较各组分的色谱峰型及分离情况,最后确定采用磷酸三乙胺溶液(取三乙胺 4mL,加水至 1000mL,用磷酸调 pH 2.5) - 甲醇(45:55) 为流动相,在此流动相条件下,各组分的峰型及分离度均理想,同时未见其他成分干扰。

3.3 色谱柱的比较 在确定流动相之后,分别对 Phenomenex Luna C₁₈、Phenomenex Column XB C₁₈、Kromasil C₈ 等色谱柱进行了比较,结果发现 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱对本品的分离效果较好。

3.4 水杨酸、间苯二酚、苯酚、水杨酸甲酯是复方水杨酸溶液中的主要成分,由于其易挥发和氧化,故其储存条件要求避光、密闭保存。从 4 批样品的测定结果可以看出 4 批样品中水杨酸、间苯二酚、苯酚的含量控制较好,而水杨酸甲酯的含量不同厂家有一定差异,笔者认为有必要同时控制四组分的含量,以确保产品质量。

参考文献

- 1 DU Hong-guang (杜红光),DU Yan (杜炎),DONG Xing-yue (东星月). Preparation and quality control of compound salicylic acid liniment (复方水杨酸搽剂的制备与质量控制). *Chin J Nat Med* (中国自然医学杂志) 2006 8(1):13
- 2 XIE Ling (谢玲),LU Zhi-yong (陆志勇). Simultaneous determination of three components in compound salicylic acid liniment by dual-wavelength regression method (双波长回归法同时测定复方水杨酸搽剂三组分含量). *Capit Med* (首都医药) 2001 8(1):40
- 3 YANG Hui (杨慧),YUAN Jing-qun (袁京群),YU Jia (俞佳) et al. Determination of salicylic acid and resorcinol in compound salicylic acid lotion by HPEC (高效毛细管电泳法同时测定复方水杨酸洗剂中水杨酸和间苯二酚的含量). *Her Med* (医药导报), 2006 25(10):1068
- 4 LIU Hai-xing (刘海兴),YU Ai-min (于爱民),WU Jun (吴峻). Determination of resorcinol and salicylic acid in tincture piyaning by capillary zone electrophoresis (毛细管电泳法测定皮炎宁酊中间苯二酚和水杨酸的含量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志) 2005 25(7):838
- 5 WU Xiao-hong (吴小红),PENG Zhong-xiao (彭中笑). Simultaneous determination of three components in compound salicylic acid liniment by RP-HPLC (HPLC 法同时测定复方水杨酸搽剂三组分的含量). *Drug Stand China* (中国药品标准) 2008 9(5):384
- 6 LI Zai-xin (李再新),WU Xiao-hong (吴小红). Determination of two components in compound salicylic acid tincture by HPLC (HPLC 法测定复方水杨酸酊双组分含量). *J Clin Med Pract* (实用临床医药杂志) 2008,12(4):54
- 7 SHANG Guo-mei (商国美),YU Jia (俞佳). Determination of salicylic acid and resorcinol in compound salicylic acid lotion by RP-HPLC (反相高效液相色谱法同时测定复方水杨酸洗剂中水杨酸和间苯二酚的含量). *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学) 2005 22(1):74
- 8 LI Wei-ling (李玮玲),QIU Juan (邱娟). Analysis of active ingredients in compound methyl salicylate liniment by HPLC (HPLC 法测定复方水杨酸甲酯搽剂的含量). *J Guangdong Coll Pharm* (广东药学院学报) 2007 23(5):533

(本文于 2010 年 11 月 21 日收到)