

且在一定条件下达到平衡,所以即使采用不同流动相,还是存在 α 峰拖尾而 β 峰前延的现象,因此造成两峰间的基线不平,经方法学验证后,基线不平对测定结果影响较小。在得到较好地分离度和理论板数,且简化操作、节约试剂的情况下,最终选用乙腈-水(60:40)作为本实验的流动相。供试品溶液在制备好30 min后再进样,因为 α 与 β 异构体的峰面积之和此时才已趋于稳定,故以双氢青蒿素异构体峰面积之和计算双氢青蒿素的含量。

《中华人民共和国药典》2010年版收载的双氢青蒿素片含量测定的方法为紫外分光光度法,由于自制双氢青蒿素片的辅料经此方法处理后检测时存在一定的紫外吸收,对测定结果影响较大,因此本实验建立HPLC法以避免辅料对测定结果的影响。本法专属性更强,测定结果更精确,且丰富和完善《中华人民共和国药典》的质量标准,适合于双氢青蒿素片的含量测定,可作为双氢青蒿素片的质量控制方法。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.10.028

[参考文献]

- [1] POSNER G H, PAIK I H, SUR S, et al. Orally active, antimalarial, anticancer, artemisinin-derived trioxane dimers with high stability and efficacy [J]. *J Med Chem* 2003, 46 (6): 1060.
- [2] 韩利平, 黄强, 曾丽艳, 等. 青蒿素及其衍生物的抗疟机制研究进展 [J]. *自然科学通报* 2009, 19(1): 25-32.
- [3] 李美琴, 范琦, 张晓松. HPLC-ELSD法测定复方双氢青蒿素片中双氢青蒿素的含量 [J]. *药物分析杂志* 2006, 26 (8): 1163-1165.
- [4] 朱凯, 范琦, 张小松, 等. 高效液相色谱法测定双氢青蒿素哌喹片中双氢青蒿素的含量 [J]. *药物分析杂志* 2007, 27 (9): 1484-1486.
- [5] 夏铮铮, 范琦, 杨成钢, 等. HPLC法测定青蒿琥酯及其片剂的含量 [J]. *药物分析杂志* 2006, 26(5): 656-658.
- [6] 洪馨, 黄天来, 宓穗卿, 等. 高效液相色谱-质谱联用技术测定人血浆中双氢青蒿素的含量 [J]. *分析测试学报*, 2005, 24(1): 46-48.

中空纤维分离-高效液相色谱法 测定复方痤疮凝胶中主药的含量

马亚中¹, 吴燕¹, 刘丽平¹, 林向阳²

(1. 空军总医院药学部, 北京 100142; 2. 解放军空军后勤部卫生部, 北京 100720)

[摘要] 目的 建立中空纤维分离-高效液相色谱(HPLC)法测定复方痤疮凝胶剂中主药含量的方法。方法 采用中空纤维处理凝胶样品, 含量测定以 Venusil XBP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm 5 μ m)为固定相, 以磷酸盐缓冲液(取0.015 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液, 磷酸溶液调节pH至3.0)-乙腈为流动相进行梯度洗脱; 进样量: 20 μ L; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 紫外检测波长: 克林霉素磷酸酯: 210 nm, 维A酸: 350 nm。结果 主成分峰与相邻杂质峰分离度>1.5。克林霉素磷酸酯在48.00~480.00 μ g·mL⁻¹范围内线性关系良好, $r=0.9998$, 平均回收率为99.96%, RSD为0.69% ($n=6$)。维A酸在1.00~20.00 μ g·mL⁻¹范围内线性关系良好, $r=0.9997$, 平均回收率为99.99%, RSD为1.24% ($n=6$)。结论 该方法简单、可靠, 可用于复方痤疮凝胶剂中的样品处理和含量测定。

[关键词] 痤疮凝胶; 中空纤维; 含量测定; 色谱法; 高效液相; 卡波姆

[中图分类号] R986; R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)10-1340-04

Separation and Determination of Clindamycin Phosphate and Tretinoin in Acne Gel by Hollow Fiber-High Performance Liquid Chromatography

MA Ya-zhong¹, WU Yan¹, LIU Li-ping¹, Lin Xiang-yang² (1. Department of Pharmacy, the General Hospital of Air Force, Beijing 100142, China; 2. Health Ministry of Air Force Rear-Service Department, Beijing 100720, China)

ABSTRACT Objective A simple sample pretreatment method was developed for the determination of clindamycin phosphate and tretinoin in Acne Gel by hollow fiber-HPLC. **Methods** The gel sample pretreatment was carried out by hollow fiber. The chromatographic analysis was carried out on a Venusil XBP-C₁₈ column(150 mm×4.6 mm 5 μ m) with acetonitrile and potassium dihydrogen phosphate buffer solution(the pH value was adjusted to 3.0 by phosphoric acid) as the mobile phase by gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was 30 $^{\circ}$ C and sample size was 20 μ L. The detection wavelength of clindamycin phosphate and tretinoin in Acne Gel were set at 210 nm and 350 nm, respectively. **Results** The

good resolution between peaks of main drugs and of the adjacent purity was obtained. Good linear relations in determination of clindamycin phosphate and tretinoin were obtained in the range of 48.00–480.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.999\ 8$) and 1.00–20.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.999\ 7$), respectively. Meanwhile, the average recovery were 99.96% (RSD=0.69% $n=6$) and 99.99% (RSD=1.24% $n=6$). **Conclusion** This method is simple and accurate, and it's suitable for the sample pretreatment and content determination of main drugs in acne gel.

KEY WORDS Acne gel; Hollow fiber; Content determination; HPLC; Carbomer

复方痤疮凝胶以克林霉素磷酸酯、维 A 酸为主药,既能针对痤疮的多个发病环节起效,又能充分发挥两药药效相加作用^[1]。剂型选择以卡波姆为基质的水凝胶,质地均匀细腻,易涂布,附着性强,无油腻感,不污染衣物,无刺激性,患者的顺应性好^[2]。由于卡波姆为高分子聚合物,具有高黏性,若供试品溶液未经处理,直接进入色谱柱,对色谱柱损伤较大,柱效与分离度下降较为明显,同时使样品含量结果偏低。一般凝胶样品处理的方法有超声溶解法、过滤法、离心法、加入沉淀剂过滤法等^[3-6]。本研究首次使用中空纤维处理凝胶样品,并建立高效液相色谱(HPLC)法测定克林霉素磷酸酯和维 A 酸的方法,简单易行。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 DGU-20A₃ 全自动高效液相色谱仪,配备 CBM-20A 检测器、SIL-20A 自动进样器及 LC-SOLUTION 化学工作站;电子分析天平为 Sartorius BS 110S 型;色谱柱为天津博纳艾杰尔科技有限公司 Venusil XBP-C₁₈(L) 柱,批号:VA951505-0;聚丙烯中空纤维(壁厚 0.2 mm,内径 1.0 mm,截留相对分子质量 12 000,上海蓝景膜技术有限公司)。

1.2 试剂 复方痤疮凝胶剂(含 1.2% 克林霉素磷酸酯 0.025% 维 A 酸,规格:每支 30 g,批号:20100801,20100802,20100803,由空军总医院药学部制剂研究室自制)。维 A 酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100307-200902,纯度:99.4%);克林霉素磷酸酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号:130486-200803,纯度:80.3%,以克林霉素计),克林霉素磷酸酯原料药(苏州第四制药厂,批号:CP0804024,纯度:95%);维 A 酸原料药(重庆华邦制药厂,批号:0950191,纯度:99%);卡波姆 U21(美国诺誉公司,批号:EC311ZR062);乙腈为色谱纯;磷酸二氢钾、磷酸均

为分析纯;水为重纯化水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方与制备

2.1.1 处方 克林霉素磷酸酯 1.2 g,维 A 酸 0.025 g,卡波姆 1 g,乙醇、甘油、三乙醇胺、防腐剂及抗氧化剂适量,纯化水加至 100 g。

2.1.2 制备方法 称取处方量的卡波姆 U21,在磁力搅拌作用下将卡波姆用筛网筛入甘油和纯化水的混合溶液中,待其充分溶胀(A 液),将克林霉素磷酸酯加水溶解(B 液),取维 A 酸、抗氧化剂和防腐剂溶于乙醇(C 液),于 50 ℃ 水浴条件下将 B 液缓缓加入充分溶胀的 A 液中,再将 C 液加入,搅拌混匀,三乙醇胺调节适宜 pH,补水至全量。

2.2 溶液的配制

2.2.1 维 A 酸对照液的配制 准确称取维 A 酸对照品 10 mg 置于 100 mL 量瓶中,加入无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配成 0.1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的母液,精密移取母液 0.5 mL 置于 10 mL 量瓶中,无水乙醇稀释至刻度,摇匀,配成 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.2 克林霉素磷酸酯对照液的配制 准确称取克林霉素磷酸酯对照品 24 mg 置于 10 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,配成 2.4 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液,移取 1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配成 240 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.3 实验装置的制备 实验前将长约 1 m 的中空纤维盘在一起置于烧杯中,加入纯化水超声清洗约 15 s,取出于 40 ℃ 烤箱中过夜烘干或自然风干后,将中空纤维切成约 18 cm 的小段备用。置于长约 8 cm 的玻璃离心管,将样品溶液注入,封口膜固定。

2.2.4 供试品及空辅溶液的制备 取两份凝胶样品各 0.1 g,置于两个 5 mL 量瓶中,各加 15% 氯化钠溶液 2 或 3 滴沉淀剂后^[7],分别加入适量的无水乙醇和重蒸馏水 60%,超声功率超声 15 min,放冷,分别用无水乙醇和重蒸馏水稀释至刻度,摇匀,注入中空纤维装置,3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min(离心机半径 6 cm),取出中空纤维,用平针注射器将供试品溶液打入进样瓶套管中备用,其中加入无水乙醇是制备维 A 酸的供试品溶液,加入重蒸馏水是制备克林霉素磷酸酯的供试

[收稿日期] 2011-01-27 [修回日期] 2011-03-05

[作者简介] 马亚中(1980-),男,河北保定人,药师,学士,从事医院药学工作。电话:010-66928557, E-mail: yanjiushi1010@126.com。

[通讯作者] 吴燕(1980-),女,湖北红安人,主管药师,博士,研究方向:缓控释及靶向制剂。电话:010-66928557, E-mail: pharmacy0909@hotmail.com。

品溶液。空辅(空白凝胶)溶液同样按上述方法处理。

2.3 色谱条件 色谱柱: Venusil XBP-C₁₈ (4.6 mm×150 mm 5 μm, 天津博纳艾杰尔科技有限公司); 流动相: 乙腈-磷酸盐缓冲液(25:75) (0~10 min), 乙腈-磷酸盐缓冲液(80:20) (10~30 min); 紫外检测波长: 克林霉素磷酸酯: 210 nm, 维 A 酸: 350 nm。流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30℃; 进样量: 20 μL; 理论板数均不小于 4 000。

2.4 系统适用性实验 分别取“2.2”项下对照品、供试品和空辅溶液进样, 在上述色谱条件下进样, 结果供试品溶液主峰的保留时间与对照品主峰的保留时间一致, 且空白辅料无干扰。典型的色谱分离图见图 1。

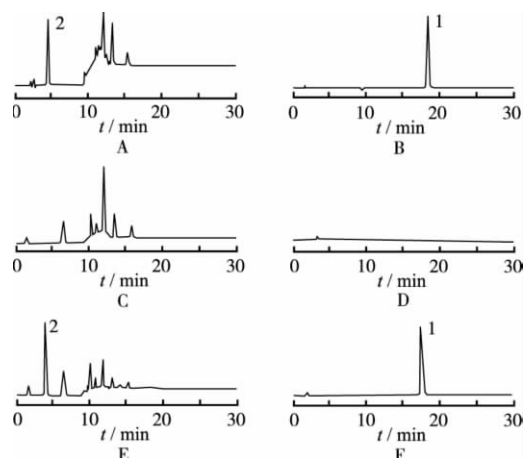


图 1 对照品、空辅和供试品的 HPLC 色谱图

A. 克林霉素磷酸酯对照液(210 nm); B. 维 A 酸对照液(350 nm); C. 空辅(210 nm); D. 空辅(350 nm); E. 样品(210 nm); F. 样品(350 nm); 1. 维 A 酸; 2. 克林霉素磷酸酯

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance, negative sample and acne gel

A. clindamycin phosphate (210 nm); B. tretinoin control (350 nm); C. negative sample (210 nm) D. negative sample (350 nm); E. sample (210 nm); F. sample (350 nm); 1. tretinoin; 2. clindamycin phosphate

2.5 线性关系考察

2.5.1 维 A 酸标准曲线的绘制 依次精密移取“2.2.1”项下维 A 酸对照液的配制中 0.1 mg·mL⁻¹ 的母液 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得 1, 3, 5, 8, 10, 15, 20 μg·mL⁻¹ 的系列浓度, 各进样 20 μL, 以峰面积(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标, 得标准曲线方程为: $A = 149.43C - 12.06$ $r = 0.9997$, 维 A 酸的线性范围为 1~20 μg·mL⁻¹。

2.5.2 克林霉素磷酸酯标准曲线的绘制 依次精密移取“2.2.2”项下克林霉素磷酸酯对照液的配制中 2.4 mg·mL⁻¹ 的母液 0.2, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5,

2.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 得 48, 144, 192, 240, 288, 360, 480 μg·mL⁻¹ 的系列浓度, 各进样 20 μL, 以峰面积(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标, 得标准曲线方程为: $A = 3.8258C + 15.55$ $r = 0.9998$ 。克林霉素磷酸酯的线性范围为 48~480 μg·mL⁻¹。

2.6 精密度实验

2.6.1 仪器精密度 分别取“2.5.1”项下制得的 5 μg·mL⁻¹ 维 A 酸对照液和“2.5.2”项下制得的 240 μg·mL⁻¹ 克林霉素磷酸酯对照液 20 μL, 连续进样 6 次, RSD 值分别为 0.27%、0.36%。

2.6.2 日内精密度 分别取“2.5.1”项下制得的 5 μg·mL⁻¹ 维 A 酸对照液和“2.5.2”项下制得的 240 μg·mL⁻¹ 克林霉素磷酸酯对照液 20 μL, 在不同时间(2, 4, 6, 8, 10 h 末)内进样, RSD 值分别为 0.61%, 0.85%。

2.7 重复性实验 选择同一批号复方痤疮凝胶剂(批号: 20100801)按“2.2.4”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别取 20 μL 进样, 记录峰面积。结果维 A 酸平均标示量为 99.74%, RSD 为 0.92% ($n=6$), 克林霉素磷酸酯平均标示量为 100.83%, RSD 为 0.58% ($n=6$), 表明该方法重复性好。

2.8 回收率实验 精密称取 3 份 0.2 g 的空辅置于 10 mL 量瓶, 分别依次加入 0.1 mg·mL⁻¹ 维 A 酸母液 0.4, 0.5, 0.6 mL 及 2.4 mg·mL⁻¹ 克林霉素磷酸酯母液 0.8, 1.0, 1.2 mL, 平行制备 6 份模拟样品, 按“2.2.4”项下的供试品及空辅溶液的制备方法处理样品后进样, 结果维 A 酸平均回收率为 99.99%, RSD 为 1.24% ($n=6$), 克林霉素磷酸酯平均回收率为 99.96%, RSD 为 0.69% ($n=6$)。

2.9 样品含量测定 分别取对照品溶液及供试品溶液各 20 μL 进样, 测定峰面积, 按外标法计算含量, 得到 3 批样品维 A 酸含量分别为标示量的 100.73%, 101.20%, 98.93%, RSD 为 1.19%。克林霉素磷酸酯含量分别为标示量的 99.41%, 98.57%, 99.38%, RSD 为 0.48%。

3 讨论

中空纤维^[8]处理凝胶样品时, 在离心力的作用下, 凝胶剂中大于中空纤维分子截留量的卡波姆大分子被截留, 样品溶液的主药小分子能通过垂直放置在离心管中的中空纤维。与一般的微孔滤膜过滤相比, U 型中空纤维膜与离心力完全平行, 最大限度减少浓度极化现象。本实验采用长约 15 cm 的中空纤维, 在离心转速 3 500 r·min⁻¹ 时就可得到滤液约 60 μL,

能够满足色谱分析需求。

本实验在进行凝胶样品的预处理时,在均加入沉淀剂的情况下,通过比较离心法、超声过滤、超声离心过滤和超声中空纤维处理凝胶样品等 4 种方法,发现通过超声中空纤维处理后,样品主药回收率高杂峰少,主峰分离度好。由于卡波姆水凝胶十分黏稠,其在水中不是溶解而是缓慢溶胀,但卡波姆对盐分和阳离子敏感^[9],样品预处理时加入 15% 氯化钠溶液沉淀剂,破坏凝胶的结构,提高药物的测定回收率。本实验通过单因素影响实验,考察了超声功率和超声时间对样品回收率的影响,发现超声时间越长,超声功率越大,维 A 酸药物有降解峰出现,超声时间过短和超声功率过小,不足以将卡波姆大分子破坏,主药的回收率低,选择 60% 的超声功率超声 15 min,既能保证主药不被破坏,又能提高主药回收率。

在超滤溶剂的选择过程中,由于维 A 酸和克林霉素磷酸酯的溶解性质差异很大,克林霉素磷酸酯易溶于水,维 A 酸在水中几乎不溶。以水和乙醇分别作为克林霉素磷酸酯和维 A 酸的超滤溶剂时,能获得良好的回收率。

在含量测定的色谱条件优化过程中,随着缓冲盐 pH 的提高,维 A 酸的出峰时间缩短,峰形拖尾,升高温度选择 pH 3.0 的缓冲盐能使维 A 酸获得良好峰形和分离度。

[DOI] 10.3870/ydyb.2011.10.029

[参考文献]

- [1] RICHTER J R, FORSTROM L R, KISTALA U O, et al. Efficacy of the fixed 1.2 % clindamycin phosphate, 0.025 % tretinoin gel formulation (Velac) and proprietary 0.025 % tretinoin gel formulation (Aberela) in the topical control of facial acne [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 1998, 11 (3): 227-233.
- [2] LEYDEN J, GROVE G L. Randomized facial tolerability studies comparing gel formulations of retinoids used to treat acne vulgaris [J]. *Cutis* 2001 67(6): 17-27.
- [3] 于捷飞, 杨娟, 刘亚妮. 阿昔洛韦凝胶含量测定法中的供试品溶液制备方法的研究 [J]. *中国自然医学杂志* 2008, 10(4): 297-300.
- [4] 周莉红, 刘远军, 余汉华, 等. 环吡酮胺凝胶的制备与含量测定 [J]. *医药导报* 2009 28(8): 1070-1071.
- [5] 方建国, 王文清, 汪秋兰, 等. 布洛芬凝胶的制备与质量控制 [J]. *医药导报* 2006 25(1): 52-54.
- [6] 颜琳琦, 刘可, 郭云珍, 等. 高效液相色谱法测定凝胶剂中阿达帕林的含量 [J]. *药物分析杂志* 2006 26(3): 409-410.
- [7] 李海涛, 于学珍, 林家红. 复方克林霉素磷酸酯凝胶的制备及质量控制 [J]. *药学进展* 2006 30(6): 270-273.
- [8] 孙婷, 孙玉刚, 李珺沫, 等. 羟丙甲纤维素滴眼液中苯扎溴铵的中空纤维分离-HPLC 测定 [J]. *中国医药工业杂志*, 2009 40(9): 705-707.
- [9] 颜冬梅, 朱卫丰, 刘红宁, 等. 药物对卡泊姆凝胶体系流变性能的影响 [J]. *中成药* 2008 30(11): 1687-1689.

高效液相色谱法测定氯磺丙脲片的含量

李莉¹, 冯燕², 赵连兴¹

(1. 河北省邯郸市药品检验所 056001; 2. 河北省邯郸市第一医院消化内科 056001)

[摘要] 目的 建立高效液相色谱 (HPLC) 法测定氯磺丙脲片的含量。方法 岛津 VP-ODS 色谱柱 (4.6 mm×250 mm 5 μm); 乙腈-磷酸二氢铵溶液 (pH3.5) (70:30) 为流动相; 检测波长 207 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。结果 氯磺丙脲在 20.04~801.60 μg·mL⁻¹ 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.9998$); 平均回收率为 99.65% ($n=9$)。结论 该方法定量准确, 可用于测定氯磺丙脲片的含量。

[关键词] 氯磺丙脲; 含量测定; 色谱法; 高效液相

[中图分类号] R977.15; R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)10-1343-02

氯磺丙脲片是一种降糖药,适用于治疗单用饮食控制疗效不满意的轻、中度 2 型糖尿病。其标准收载于《中华人民共和国药典》2010 年版二部^[1],含量测定

采用容量分析法。笔者采用高效液相色谱 (HPLC) 法对其含量测定进行了研究,取得满意的结果。

1 仪器与试剂

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪 (日本岛津), Lcsolution 色谱工作站。氯磺丙脲对照品 (河北省药品检验所提供,批号: 990702,含量: 99.0%); 氯磺丙脲片

[收稿日期] 2010-12-27 **[修回日期]** 2011-02-14

[作者简介] 李莉 (1974-),女,河北邯郸人,副主任药师,双学士,研究方向: 药物分析。电话: 0310-3111576-8005, E-mail: llqikai@yahoo.com.cn。