

应用化学, 2005 22(4): 445.

[2] Wang P, Jiang S, Liu D, *et al* Direct enantiomeric resolutions of chiral triazole pesticides by high performance liquid chromatography [J]. *Biochemical and biophysical methods* 2005 62: 219.

[3] Bemal JL, Toribio L, Nozal MJ *et al* Separation of antifungal chiral drugs by SFC and HPLC: a comparative study [J]. *Biochemical and biophysical methods* 2002, 54: 245

[4] 韩小茜, 温晓光, 管永红, 等. 流动相组成及温度对 4 种 1, 2, 4-三唑类农药对映体手性拆分的影响 [J]. *应用化学*, 2004, 21(2): 140

[5] Wu YS, Lee HK, Li SFY. High performance chiral separation of fourteen triazole fungicides by sulfated β -cyclodextrin-mediated capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 912: 171.

[6] Lin C, Chen C. Migration behavior and separation of aromatic triazole and thiazole compounds by capillary zone electrophoresis [J]. *Chromatogr A*, 1996, 731: 299

[7] Toribio L, do Nozal MJ, Bemal JL, *et al* Chiral separation of some triazole pesticides by supercritical fluid chromatography [J]. *Chromatogr A*, 2004 1046(1~2): 249.

收稿日期: 2008-03-10

HPLC法测定复方软甲膏中水杨酸和盐酸丁卡因的含量

顾伟锋, 朴淑娟, 张 纯 (第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003)

摘要 目的: 建立测定复方软甲膏中水杨酸和盐酸丁卡因含量的 HPLC法。方法: 色谱柱为 Agilent-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-磷酸 (50: 50: 0.04), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 313 nm。结果: 水杨酸溶液在 82.00~ 410.00 μg/mL 时与其吸收值呈良好线性关系 ($r = 0.9999$), 平均加样回收率 99.80%, $RSD = 1.68%$; 盐酸丁卡因溶液在 5.00~ 25.00 μg/mL 时与其吸收值呈良好线性关系 ($r = 0.9999$), 平均加样回收率 99.75%, $RSD = 1.36%$ 。结论: 本方法操作简便、快捷, 结果准确、可靠, 适用于复方软甲膏的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 水杨酸; 盐酸丁卡因

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)03-0217-03

Determination of salicylic acid and tetracation hydrochloride in Compound onychomycosis cream by HPLC

GU Weifeng, PIAO Shurjuan, ZHANG Chun (Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003)

ABSTRACT Objective To establish a HPLC method for the determination of salicylic acid and tetracation hydrochloride in compound onychomycosis cream. **Methods** Agilent C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column was used with a mobile phase of methanol-water-phosphoric (50: 50: 0.04) and a flow rate of 1.0 mL/min at the detection wavelength of 313 nm. **Results** This method showed good linear relation ($r = 0.9999$) in the range of 82.00~ 410.00 μg/mL for salicylic acid and 5.00~ 25.00 μg/mL for tetracation hydrochloride. The average recoveries were 99.80% and 99.75%, with the relative standard deviation of 1.68% and 1.36%, respectively. **Conclusion** The method is simple, quick, accurate and suitable for the quality control of compound onychomycosis cream.

KEY WORDS HPLC; salicylic acid; tetracation hydrochloride

复方软甲膏是本院研制的皮肤科制剂, 主要由水杨酸 (salicylic acid)、盐酸丁卡因 (tetracation hydrochloride) 等药物组成, 具有软化指甲板作用, 提高甲癣局部治疗的效果。本文采用高效液相色谱法同时测定复方软甲膏中主要成分水杨酸和盐酸丁卡

因的含量, 操作简便, 结果准确, 适用于复方软甲膏的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 waters600 高效液相色谱仪 (美国); 岛津紫外分光光度计 (上海第三分析仪器厂); 梅特勒 AE240 电子天平 (梅特勒 托利多仪器 <上海> 有限公司)。

作者简介: 顾伟锋 (1978-), 男, 硕士研究生, E-mail: guweifeng78@yahua.com.

通讯作者: 张纯 (1978-), 男, 副主任药师, Tel: (021) 65307133.

1.2 试药 复方软甲膏样品(上海长征医院自制制剂,批号 20071025, 20071026, 20071030);水杨酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100106~200303),盐酸丁卡因对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100456~200301),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent-C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-磷酸溶液(50:50:0.04)(pH 2.8~3.1);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 313 nm;柱温为室温;进样量为 20 μL。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液配制 精密称取水杨酸对照品 205 mg,置 100 mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为水杨酸对照品储备液。

精密称取盐酸丁卡因对照品 12.5 mg,置 100

mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为盐酸丁卡因对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液配制 取复方软甲膏约 2 g(约含 200 mg 水杨酸、约含 10 mg 盐酸丁卡因),精密称定,置小烧杯中,加入 70 mL 无水乙醇,70 °C 水浴加热使溶解,待放冷后过滤,用无水乙醇反复冲洗过滤器,合并滤液,用无水乙醇定容于 100 mL 容量瓶中。精密量取 2 mL,置 25 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 可行性试验 按处方比例配制不含主药的空白基质,照“供试品溶液的配制”项下操作,制得空白基质溶液,并与水杨酸和盐酸丁卡因对照品溶液和供试品溶液,照“2.1 色谱条件”项下方法进行测定。对照品与供试品中的水杨酸保留时间为 5.7 min,盐酸丁卡因保留时间为 3.8 min,基质在此处无吸收峰出现,不干扰主药含量测定。色谱图见图 1。

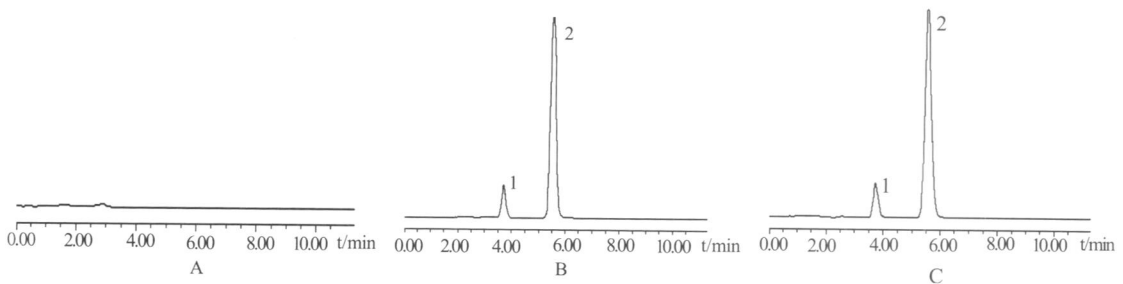


图 1 HPLC 图谱

A-空白基质溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-盐酸丁卡因; 2-水杨酸

2.4 标准曲线 精密量取水杨酸对照品储备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀。分别取 20 μL,进样,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,以浓度为横坐标进行线性回归,得水杨酸的标准曲线: $Y_{\text{水}} = 29616 X_{\text{水}} + 34373$, $r = 0.9999$,线性范围: 82.00 ~ 410.00 μg/mL。

精密量取盐酸丁卡因对照品储备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀。分别取 20 μL,进样,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,以进样浓度为横坐标进行线性回归,得盐酸丁卡因的标准曲线: $Y_{\text{丁}} = 91780 X_{\text{丁}} + 2554.8$, $r = 0.9999$,线性范围: 5.00 ~ 25.00 μg/mL。

2.5 精密度 各取水杨酸和盐酸丁卡因对照品储备液,按“2.1 色谱条件”项下操作,分别在 1 天内重复进样 5 次,测定水杨酸和盐酸丁卡因峰面积,计

算得水杨酸 $RSD = 1.33\%$ ($n = 5$),盐酸丁卡因 $RSD = 1.08\%$ ($n = 5$)。另外,连续 5 天,分别每天进样 1 次,测定水杨酸和盐酸丁卡因峰面积,计算得水杨酸的日间 $RSD = 1.64\%$ ($n = 5$),盐酸丁卡因日间 $RSD = 1.26\%$ ($n = 5$)。

2.6 稳定性实验 取供试品溶液,分别于配制后 0.1, 2, 4, 6, 8 h 进样 20 μL,测定水杨酸和盐酸丁卡因峰面积,结果水杨酸 $RSD = 1.18\%$ ($n = 6$),盐酸丁卡因 $RSD = 1.38\%$ ($n = 6$)。

2.7 重复性实验 取复方软甲膏约 2 g 依“2.2”项下供试品溶液的制备方法,制备 6 份供试品溶液,按“2.1 色谱条件”项下操作,分别测定水杨酸和盐酸丁卡因的峰面积,计算得水杨酸的 $RSD = 0.86\%$ ($n = 6$);盐酸丁卡因的 $RSD = 1.16\%$ ($n = 6$)。

2.8 加样回收实验 取 9 份复方软甲膏样品(批号: 071030)各约 1 g 精密称定,分成 3 组,再分别精密加入适量的水杨酸和盐酸丁卡因对照品,按“2

2”项下供试品溶液的制备方法操作, 制得供试品溶液。按“2.1 色谱条件”项下操作, 分别测定水杨酸和盐酸丁卡因的峰面积, 计算其加样回收率。水杨

酸的平均加样回收率为 99.80%, $RSD = 1.68\%$, ($n = 9$), 盐酸丁卡因的平均加样回收率为 99.75%, $RSD = 1.36\%$, ($n = 9$)。结果见表 1 表 2

表 1 水杨酸回收率测定结果

编号	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	总平均回收率 (%)	RSD (%)
1	100.35	60.60	160.64	99.47		
2	100.26	60.33	158.91	97.75		
3	100.31	60.44	160.34	99.33		
4	100.27	101.50	199.48	97.73		
5	100.23	101.44	201.85	100.18	99.80	1.68
6	100.34	101.53	203.15	101.26		
7	100.23	140.20	244.60	102.97		
8	100.25	140.06	241.19	100.62		
9	100.36	140.18	239.04	98.92		

表 2 盐酸丁卡因回收率测定结果

编号	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	总平均回收率 (%)	RSD (%)
1	5.04	3.30	8.36	100.60		
2	5.04	3.23	8.24	99.07		
3	5.04	3.20	8.27	100.63		
4	5.16	5.30	10.40	98.89		
5	5.16	5.25	10.35	98.85	99.75	1.36
6	5.16	5.33	10.57	101.50		
7	5.08	7.34	12.32	98.64		
8	5.07	7.24	12.43	101.66		
9	5.09	7.33	12.27	97.95		

2.9 样品含量测定 取复方软甲膏 2 g(约含 200 mg 水杨酸、约含 10 mg 盐酸丁卡因), 精密称定, 置小烧杯中, 加入 70 mL 无水乙醇, 70 °C 水浴加热使溶解, 待放冷后过滤, 用无水乙醇反复冲洗滤器, 合并滤液, 置 100 mL 容量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述溶液 2 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。取 20 μL 进样测定, 按外标法分别计算供试品中水杨酸和盐酸丁卡因的含量。测定三批复方软甲膏 (批号: 071025, 071026, 071030) 的结果为: 水杨酸标示含量分别为 101.56%、101.89%、99.31%, 盐酸丁卡因标示含量分别为 100.18%、99.61%、98.92%。

3 讨论

3.1 本实验对流动相不同比例甲醇、水和磷酸溶液的色谱条件进行比较, 结果表明甲醇-水-磷酸溶液 (50: 50: 0.04) ($\text{pH} 2.8 \sim 3.1$) 时的流动相效果最佳, 水杨酸保留时间为 5.7 min, 盐酸丁卡因保留时间为 3.8 min, 分离效果和色谱峰形皆较理想。其谱图较单纯以甲醇-水为流动相的谱图有了较大改善。

3.2 文献报道, 用紫外分光光度法^[1, 3]和 HPLC 法^[2, 4]分别单独测定水杨酸和盐酸丁卡因的含量, 但紫外分光光度法不能有效地消除基质对紫外吸收的干扰。本文建立了高效液相色谱法同时测定水杨酸和盐酸丁卡因的含量, 基质对水杨酸和盐酸丁卡因的无干扰, 结果更准确。具有简便, 快速, 准确, 专属性强的特点, 可作为复方软甲膏的质量控制方法。

参考文献:

[1] 吴渝陵, 范虹, 罗凤琴, 等. 紫外分光光度法测定水杨酸软甲膏中水杨酸含量 [J]. 中国药业, 2006, 15(16): 19.
 [2] 邢俊家, 周晖. 高效液相色谱法测定复方苯甲酸凝胶中苯甲酸和水杨酸的含量 [J]. 中国医科大学学报, 2007, 36(2): 223.
 [3] 罗德祥. 紫外分光光度法测定盐酸丁卡因滴眼液中盐酸丁卡因含量 [J]. 广东药学, 2001, 11(1): 14.
 [4] 范玉峰, 詹新卫, 胡守莲, 等. HPLC 法测定复方地塞米松丁卡因乳膏中醋酸地塞米松和盐酸丁卡因的含量 [J]. 中国药事, 2007, 21(8): 596

收稿日期: 2007-07-05