

## HPLC 法测定林可霉素乳膏中盐酸林可霉素的含量

朴淑娟, 张 纯, 江春霞, 林厚文, 陈万生(第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003)

**摘要 目的:**建立高效液相色谱法测定林可霉素乳膏中盐酸林可霉素的含量。**方法:**以 YMC C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 0.05 mol/L 硼砂溶液(磷酸溶液调节 pH 值至 6.0)-甲醇(55:45)为流动相, 紫外检测波长为 214 nm。**结果:**盐酸林可霉素在 10~30 μg 范围内线性关系良好( $r=0.9997$ ), 平均回收率为 98.74%, ( $RSD=2.06%$ ,  $n=9$ )。3 批林可霉素乳膏中盐酸林可霉素的标示含量分别为 96.21%、96.50%、93.38%。**结论:**本方法操作简便、快速, 结果准确可靠, 适用于林可霉素乳膏的质量控制。

**关键词** 盐酸林可霉素; 乳膏; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)05-0357-03

## Determination of lincomycin hydrochloride in lincomycin cream by HPLC

PIAO Shu-juan, ZHANG Chun, JIANG Chun-xia, LIN Hou-Wen, CHEN Wan-sheng (Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

**ABSTRACT Objective:** To establish high performance liquid chromatography method for determination the content of lincomycin hydrochloride in lincomycin cream. **Methods:** A YMC C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used with the mobile phase of 0.05 mol/L borax (adjust pH to 6.0 with phosphoric acid)-methanol (55:45) and UV wavelength of 214 nm. **Results:** The calibration curve of lincomycin hydrochloride was line in the range of 10~30 μg ( $r=0.9997$ ). The average recovery was 98.74% ( $RSD=2.06%$ ,  $n=9$ ). The relative content of lincomycin hydrochloride in three batch of lincomycin cream was 96.21%, 96.50% and 93.38%. **Conclusion:** This method is simple, quick, accurate and suitable for the quality control of lincomycin cream.

**KEY WORDS** lincomycin hydrochloride; cream; HPLC

林可霉素乳膏是经中国人民解放军南京军区联勤部卫生部批准的军队医院自制制剂。林可霉素乳膏主药为盐酸林可霉素, 市场上的盐酸林可霉素制剂只有片剂、胶囊剂和注射剂供应, 没有林可霉素乳膏供应。本制剂在我院临床应用多年, 对治疗各种痤疮有显著疗效, 受到医生和患者的一致好评。盐酸林可霉素的含量测定方法文献报道有紫外分光光度法<sup>[1]</sup>、微生物测定法<sup>[2]</sup>、HPLC 法<sup>[3-5]</sup>等。本实验采用高效液相色谱法测定其中盐酸林可霉素的含量。此方法操作简便、快速, 具有良好的重现性, 能满足医院制剂质量控制要求。

### 1 仪器与试药

**1.1 仪器** 高效液相色谱系统(美国 Agilent 公司): 包括 1200 四元泵、DAD 紫外检测器、智能柱温箱、ChemStation 色谱工作站; 电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

**1.2 试药** 盐酸林可霉素(中国药品生物制品检

定所, 批号 10773-0144); 林可霉素乳膏(自制, 批号 041129、050110、050125); 甲醇(上海精化科技研究所提供, 色谱纯), 硼砂(江苏太仓化工二厂, 分析纯), 磷酸(上海复旦化学品厂永华试剂分厂提供, 分析纯), 纯化水(自制)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: YMC C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05 mol/L 硼砂溶液(磷酸溶液调节 pH 值至 6.0)-甲醇(55:45), 流速: 1 mL/min, 紫外检测波长为: 214 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 25 ℃。

**2.2 溶液配制** ①对照品溶液的制备: 精密称取盐酸林可霉素对照品适量, 用甲醇溶解并稀释成浓度为 2.5 mg/mL 溶液, 作为对照品贮备液。②供试品溶液的制备: 取本品 5 g (约含盐酸林可霉素 50 mg), 精密称定, 加入甲醇适量, 于超声波上超声提取 15 min, 用甲醇分次洗涤容器, 并入 50 mL 容量瓶中, 最后用甲醇定容, 置于冰浴中冷却 1 h, 以孔径为 0.45 μm 的过滤膜过滤, 取续滤液适量作为供试品

溶液。

**2.3 可行性实验** 按处方比例配制不含盐酸林可霉素的空白基质,按“2.2”项下供试品溶液的制备方法操作,制得空白基质溶液,并与盐酸林可霉素对照品

溶液和供试品溶液一起,按“2.1”色谱条件,注入高效液相色谱仪中进行测定。对照品与供试品中的盐酸林可霉素的保留时间为 13.78 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。

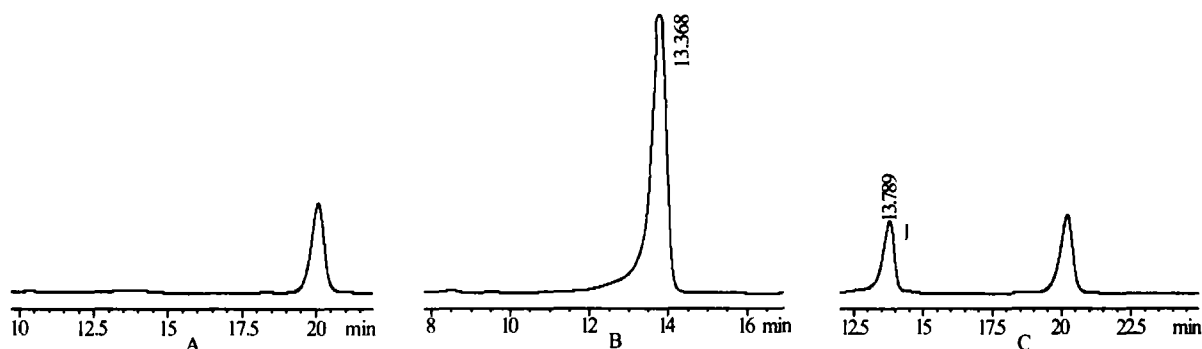


图 1 高效液相色谱图

A-空白基质;B-盐酸林可霉素对照品;C-供试品;1-盐酸林可霉素

**2.4 标准曲线** 精密量取对照品贮备液 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,配得系列对照品溶液。分别进样 20  $\mu$ L,记录盐酸林可霉素的峰面积。以峰面积( $Y$ )对浓度( $X$ )进行线性回归,得标准曲线: $Y = 2 \times 10^6 X - 1006.6$  ( $r = 0.9997, n = 5$ ),线性范围 10 ~ 30  $\mu$ g。

**2.5 精密度实验** 取对照品溶液,分别在 1 d 内重复进样 5 次,测定其峰面积,计算出日内  $RSD = 0.21\%$ ,  $n = 5$ ;另连续 5 d,每天进样 1 次,计算日间  $RSD = 1.51\%$ ,  $n = 5$ 。

**2.6 重现性实验** 取同一批号的林可霉素乳膏(批号:041129),按“2.2”项下供试品溶液的制备方法操作,配制 6 份供试品溶液,按“2.1”色谱条件,注入高效液相色谱仪中,进行测定,计算,6 份供试品中盐酸林可霉素的平均标示含量为 95.36%,  $RSD = 2.38\%$ 。

**2.7 稳定性实验** 取供试品溶液,按“2.1”色谱条件,分别于第 0、1、2、4、6、8、12 h,注入高效液相色谱仪中,进行测定,计算,供试品中盐酸林可霉素的平均标示含量为 94.65%,  $RSD = 1.67\%$ 。

**2.8 回收率实验** 取同一批号的林可霉素乳膏(批号 041129) 9 份,分成 3 组。每份各称取 2.5 g (约含盐酸林可霉素 25 mg),精密称定,置于小烧杯中,每组分别加入浓度为 2.5 mg/mL 的对照品贮备液 8、10、12 mL,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”项下色谱条件,注入高效液相色谱仪中,计算其回收率。平均回收率为 98.74%,  $RSD = 2.06\%$ ,  $n = 9$ 。结果见表 1。

表 1 盐酸林可霉素加样回收率实验结果 ( $n = 9$ )

| 样品含量<br>(mg/mL) | 加入量<br>(mg/mL) | 测得量<br>(mg/mL) | 回收率<br>(%) | 总平均回收率<br>(%) | RSD<br>(%) |
|-----------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| 0.491           | 0.40           | 0.898          | 101.88     |               |            |
| 0.488           | 0.40           | 0.873          | 96.21      |               |            |
| 0.485           | 0.40           | 0.877          | 98.11      |               |            |
| 0.476           | 0.50           | 0.963          | 97.32      |               |            |
| 0.478           | 0.50           | 0.969          | 98.25      | 98.74         | 2.06       |
| 0.483           | 0.50           | 0.994          | 102.11     |               |            |
| 0.496           | 0.60           | 1.085          | 98.18      |               |            |
| 0.469           | 0.60           | 1.065          | 99.34      |               |            |
| 0.495           | 0.60           | 1.079          | 97.26      |               |            |

**2.9 样品测定** 取林可霉素乳膏 5 g (约含盐酸林可霉素 50 mg),精密称定,加入甲醇适量,于超声波上超声提取 15 min,分次洗涤滤器,并入 50 mL 量瓶中,最后用甲醇定容,置于冰浴中冷却 1 h,以孔径为 0.45  $\mu$ m 的过滤膜过滤,取续滤液 20  $\mu$ L,注入高效液相色谱仪中,按外标法以峰面积计算盐酸林可霉素的含量。测定三批本品(批号:041129、050110、050125)中盐酸林可霉素的含量,标示含量分别为 96.21%、96.50%、93.38%,均符合规定。

### 3 讨论

**3.1** 本方法参照中国药典 2005 年版盐酸林可霉素测定方法<sup>[5]</sup>测定林可霉素乳膏中盐酸林可霉素的含量,本制剂为乳膏剂,基质中有些物质及乳膏中添加的其他药用成分在 HPLC(214 nm)条件下有吸收峰,干扰主药的测定,故选择本文中流动相的比例,

(下转第 361 页)

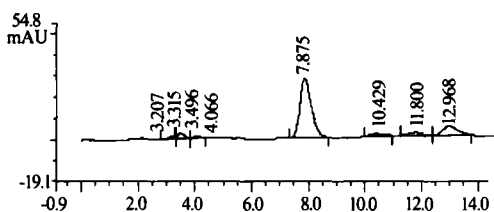


图3 黄芩高效液相色谱图

表7 黄芩中黄芩苷醇提工艺正交试验结果

| 编号             | A    | B    | C    | D(误差) | 黄芩苷含量(%) |
|----------------|------|------|------|-------|----------|
| 1              | 1    | 1    | 1    | 1     | 8.33     |
| 2              | 1    | 2    | 2    | 2     | 9.01     |
| 3              | 1    | 3    | 3    | 3     | 9.46     |
| 4              | 2    | 1    | 2    | 3     | 8.67     |
| 5              | 2    | 2    | 3    | 1     | 8.94     |
| 6              | 2    | 3    | 1    | 2     | 8.66     |
| 7              | 3    | 1    | 3    | 2     | 5.6      |
| 8              | 3    | 2    | 1    | 3     | 5.89     |
| 9              | 3    | 3    | 2    | 1     | 6.07     |
| K <sub>1</sub> | 8.93 | 7.53 | 7.62 | 7.78  |          |
| K <sub>2</sub> | 8.76 | 7.95 | 7.92 | 7.76  |          |
| K <sub>3</sub> | 5.85 | 8.06 | 8.00 | 8.01  |          |
| R              | 3.08 | 1.07 | 0.38 | 0.25  |          |

表8 正交试验方差分析

| 方差来源 | 离差平方和  | 自由度 | 均方   | F值      | P     |
|------|--------|-----|------|---------|-------|
| A    | 17.947 | 2   | 8.97 | 156.849 | <0.01 |
| B    | 0.465  | 2   | 0.23 | 4.067   |       |
| C    | 0.230  | 2   | 0.12 | 2.013   |       |
| 误差   | 0.114  | 2   | 0.06 |         |       |

$F_{0.05(2,2)} = 19.00, F_{0.01(2,2)} = 99.00$

从直观分析结果来看,各因素对黄芩苷提取率的影响程度为A > B > C,即乙醇浓度 > 提取时间 >

溶剂量。结合均值,  $A_1 > A_2 > A_3, B_3 > B_2 > B_1, C_3 > C_2 > C_1$ ,最佳提取条件为:  $A_1 B_3 C_3$ ,即乙醇浓度为50%、提取时间为3 h、溶剂量为12倍时是最佳提取工艺条件。由方差分析结果可知,乙醇浓度对黄芩苷的提取率有显著性影响,提取时间、溶剂量对黄芩苷的提取率无显著性影响。

### 3 讨论

为考察上述优选提取工艺的稳定性,按该工艺条件重复试验3次,分别测定其黄芩苷的含量,得到黄芩苷含量分别为9.53%, 9.37%, 9.49%。通过验证实验,黄芩苷的提取率比较稳定,说明所选的工艺是稳定而有效的,适合继续放大生产。

由实验结果可知,从黄芩中提取黄芩苷的影响因素中以乙醇浓度影响最大,而溶剂量及提取时间的影响则相对较小。

目前药品生产企业更改工艺现象普遍,原因之一是生产工艺的适用性较差。建议在注册报批含黄芩药材或饮片的新品种时,要根据科学试验结果,适当减少提取的溶剂量及提取时间,从而在今后的大生产中,能够在提高有效成分回收率的同时,节省生产成本,缩短生产周期,适合于放大生产,减少在后期规模生产带来的工艺变更等现象的发生。

### 参考文献:

[1] 邸秀梅,肖秀玲,严绥平. 黄芩药理学作用研究进展[J]. 内蒙古中医药,2007,26(4):57.  
 [2] 商萍,刘智. 黄芩苷水提工艺研究[J]. 黑龙江医药,2007,20(1):36.  
 [3] 中国药典2005年版.一部[S].2005:211.

收稿日期:2008-03-28

(上接第358页)

从液相色谱图中可以看到盐酸林可霉素分离度良好,林可霉素乳膏中其它成分不干扰盐酸林可霉素的测定。

3.2 提取盐酸林可霉素时采用超声提取后冷藏处理的办法,文献报道<sup>[6]</sup>盐酸林可霉素在高于60℃条件下不稳定,本法即可在超声时使盐酸林可霉素提取完全又可避免温度过高对盐酸林可霉素的影响,同时通过冷藏可除去制剂中的基质,减少对色谱柱的污染。

3.3 高效液相色谱法测定林可霉素乳膏中盐酸林可霉素的含量,具有简便、快捷、准确、重现性好等优点,适用于林可霉素乳膏的质量控制。

### 参考文献:

[1] 朱建平,张菁,高艳霞,等. 分光光度法测定盐酸林可霉素、盐酸麻黄碱、克林霉素磷酸酯三种胶囊剂的含量[J]. 中国药理学杂志,1999,34(7):498.  
 [2] 中国药典1990年版.二部[S].1990:496.  
 [3] 中国药典2000年版.二部[S].2000:630.  
 [4] 魏国义,魏京海,钱春风,等. RP-HPLC法测定林麻滴鼻剂中盐酸林可霉素和盐酸麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志,2003,23(4):332.  
 [5] 中国药典2005年版.二部[S].2005:531.  
 [6] 王文清,汪秋兰,黄泽中,等. 盐酸林可霉素凝胶的稳定性考察[J]. 医药导报,2005,24(4):332.

收稿日期:2007-10-15