

HPLC 同时测定乳膏中尿囊素和烟酰胺的含量

于桂兰, 杨建春, 杜国辉, 张琦(唐山市妇幼保健院, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 建立以高效液相色谱法同时测定乳膏中尿囊素和烟酰胺含量的方法。方法 采用 Zorbax SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(25 : 75), 流速: 0.5 mL·min⁻¹, 柱温: 30 °C, 检测波长: 217 nm。结果 尿囊素在 4.2~21.0 μg·L⁻¹ 内线性关系良好($r=0.999\ 9$), 烟酰胺在 8.0~40.0 μg·L⁻¹ 内线性关系良好($r=0.999\ 7$); 尿囊素和烟酰胺平均加样回收率分别为 99.4%(RSD=0.27%)和 99.7%(RSD=0.25%)。结论 该方法简便、快速、准确, 可用于制剂的质量控制。

关键词: 尿囊素; 烟酰胺; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)09-0841-03

Simultaneous Determination of Allantoin and Nicotinamide in Cream by HPLC

YU Guilan, YANG Jianchun, DU Guohui, ZHANG Qi(Women and Children's Hospital of Tangshan, Tangshan 063000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of allantoin and nicotinamide in cream. **METHODS** Zorbax SB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as stationary phase with methanol-0.02 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate(25 : 75) as mobile phase. The flow rate was 0.5 mL·min⁻¹, the column temperature was 30 °C, and the detection wavelength was set at 217 nm. **RESULTS** The method had good linear relationship within the range of 4.2~21.0 μg·L⁻¹($r=0.999\ 9$) for allantoin and 8.0~40.0 μg·L⁻¹($r=0.999\ 7$) for nicotinamide, respectively. The results of the average recovery were 99.4%(RSD=0.27%) and 99.7%(RSD=0.25%). **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, and it can be used for the quality control.

KEY WORDS: allantoin; nicotinamide; HPLC; content determination

尿囊素烟酰胺乳膏是我院自制制剂, 主要由尿囊素、烟酰胺、半硬脂酸甘油酯、甘油、硬脂酸等制成, 用于预防和治疗皮肤干燥、手足皲裂、糙皮病等, 疗效显著。该制剂执行省级医疗机构制剂质量标准, 标准只有主药烟酰胺的含量测定^[1]。为更好的控制制剂的质量, 本实验采用高效液相色谱法同时测定尿囊素、烟酰胺的含量, 该方法简便、快速、准确。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司, 包括 Agilent 1100 系列四元泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、可变波长检测器、Chemstation 数据处理系统); BP211D 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); B5200S-DT 超声波提取器(比能信上海超声有限公司)。

1.2 试剂

尿囊素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100431-200401, 纯度: 100%); 烟酰胺对照

品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100115-200703, 纯度: 99.9%); 甲醇为色谱纯; 磷酸二氢钾为分析纯, 水为重蒸馏水; 尿囊素烟酰胺乳膏(本院制剂室自制, 规格: 15 g, 含尿囊素 45 mg 与烟酰胺 75 mg; 批准文号: 冀药制字 H20050007, 批号: 100422, 100604, 110506)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温: 30 °C, 流动相: 甲醇-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(25 : 75), 流速: 0.5 mL·min⁻¹, 检测波长: 217 nm, 进样量 20 μL。在该色谱条件下, 色谱图见图 1。尿囊素、烟酰胺的理论板数均 >4 000, 分离度 >1.5。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取尿囊素、烟酰胺对照品 10.50, 16.80 mg, 加入 50 mL 量瓶中, 加适量蒸馏水超声溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成两种对照品含量分别为 210.0, 336.0 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

作者简介: 于桂兰, 女, 主任药师 Tel: (0315)3726722 E-mail: yg10506@sina.com

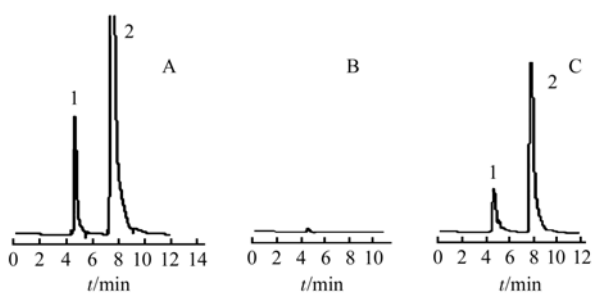


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-空白溶液; C-供试品溶液; 1-尿囊素; 2-烟酰胺

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; C-blank sample; 1-allantoin; 2-nicotinamide

2.3 供试品溶液的制备

精密称取样品 0.2 g, 置 50 mL 量瓶中, 加 80 °C 水使溶解, 放冷至室温后, 加水稀释至刻度。冰水浴冷却 15 min, 迅速用 0.45 μm 针式滤器滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 置 25 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释到刻度, 即得系列混合对照品溶液。分别取上述溶液 25 μL, 依次注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰面积积分值 Y 对进样量 X 进行回归, 得尿囊素和烟酰胺的回归方程分别为 $Y=32.1X+1.3$, $r=0.9999$; $Y=194.5X-9.4$, $r=0.9997$; 线性范围分别为 4.2~21.0 μg·mL⁻¹ 和 8.0~40.0 μg·mL⁻¹。说明两种成分浓度和峰面积线性关系良好。

2.5 仪器精密度试验

取“2.2”项下混合对照品溶液, 25 μL 进样重复 5 次, 尿囊素、烟酰胺峰面积的 RSD 分别为 0.32% 和 0.26%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液, 分别放置 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24 h 后, 进样测定, 尿囊素和烟酰胺峰面积的 RSD 分别为 1.36% 和 1.23%, 结果表明该溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下方法测定尿囊素和烟酰胺的含量, 结果表明方法的重复性良好, RSD 分别为 1.50% 和 1.30%。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量乳膏样品(批号: 110506) 0.1 g, 共 9 份, 分成 3 组, 每组 3 份, 置 50 mL

量瓶中, 加 80 °C 水使溶解, 放冷至室温; 每组分别加入混合对照品溶液 2.5, 1.5, 0.5 mL, 加水稀释到刻度, 制成高、中、低 3 个浓度的供试品溶液, 测定含量, 计算回收率。结果尿囊素和烟酰胺平均回收率分别为 99.5%, 99.6%; RSD 分别为 0.27%, 0.25%, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Tab 1 Recovery test of allantoin and nicotinamide in cream

成分	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
尿囊素	0.306 6	0.525 0	0.827 4	99.5	99.4	0.27
	0.303 0	0.525 0	0.823 0	99.4		
	0.307 8	0.525 0	0.827 8	99.4		
	0.304 8	0.315 0	0.616 7	99.5		
	0.301 2	0.315 0	0.615 0	99.8		
	0.302 1	0.315 0	0.615 2	99.7		
	0.303 6	0.105 0	0.404 5	99.0		
	0.303 0	0.105 0	0.403 9	99.0		
	0.305 1	0.105 0	0.408 0	99.5		
	0.305 1	0.105 0	0.408 0	99.5		
烟酰胺	0.523 3	0.840 0	1.360 6	99.8	99.7	0.25
	0.517 1	0.840 0	1.344 9	99.1		
	0.525 3	0.840 0	1.361 2	99.7		
	0.520 2	0.504 0	1.022 2	99.8		
	0.514 0	0.504 0	1.017 0	99.9		
	0.515 6	0.504 0	1.017 6	99.8		
	0.518 1	0.168 0	0.684 0	99.7		
	0.517 1	0.168 0	0.683 0	99.7		
0.520 7	0.168 0	0.684 6	99.4			

2.9 样品测定

按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件取 25 μL, 依次注入液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 按外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 2 Results of content in samples($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

批号	尿囊素/%	烟酰胺/%
100422	100.1±1.7	100.3±1.4
100604	98.9±2.0	99.2±1.8
110506	100.2±1.5	102.6±1.9

3 讨论

按处方比例分别取尿囊素、烟酰胺对照品适量, 用水溶解制成对照品溶液, 并稀释为样品测定项下的浓度, 在 200~400 nm 内经紫外扫描得知, 尿囊素是在末端有吸收, 烟酰胺在 214, 261 nm 有最大紫外吸收, 因此选择尿囊素末端吸收的 217

nm 为检测波长,且烟酰胺在该波长下与尿囊素的吸收无太大差异,二者分离度很好。尿囊素在热水中溶解,在碱中或在水中长时间煮沸易破坏,制备供试品溶液时易采用 70~80 °C 水提取。有文献报道^[2-3],在尿囊素的 HPLC 含量测定方面使用磷酸缓冲液调整流动相不同 pH 值,因此尝试流动相体系中加入磷酸盐缓冲液调整流动相 pH 值,改变尿囊素、烟酰胺色谱峰两种成分的保留时间,改善分离效果。通过对流动相的比例和流速的调整,使两种成分出峰时间合理,辅料无干扰,样品前处理简便,能够快速、准确分析两种主药的

含量,可提高本制剂的质量控制标准。

REFERENCES

- [1] WANG C Y, YANG J C, YU G L, et al. Preparation and clinical application of allantoin and nicotinamide cream [J]. China Pharm(中国药业), 2011, 20(5): 35-36.
- [2] XIA S H, YAN B, YU J, et al. Determination the content of allantoin in ailantion cream by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2007, 10(3): 265-266.
- [3] ZHANG F F, LI W D, YANG G M, et al. Determination of allantoin in rhizoma dioscoreae preparata by HPLC [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报), 2010, 26(2): 146-148.

收稿日期: 2012-01-17

来曲唑中残留溶剂四氯化碳顶空 μ -ECD 检测方法的建立和验证

王玉芹, 刘利, 刘杰恒(中国广州分析测试中心, 广东省分析测试技术公共实验室, 广州 510070)

摘要: 目的 建立用气相色谱外标法分析来曲唑中残留溶剂四氯化碳的方法。方法 采用 SE-30 色谱柱, 50 °C~150 °C 程序升温, 微电子捕获检测器检测。结果 四氯化碳能与其他组分很好的分离, 分离度(α)>2.0, 且峰型对称。四氯化碳浓度在 0.000 516~0.020 64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, $r=0.999\ 9$, 呈现良好的线性关系, 检测限为 0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。采用的顶空进样的样品处理方法回收率高且对色谱柱及检测器的污染小。结论 测定方法操作简便、快速、准确性高、重复性好, 可作为本品的质量控制方法。

关键词: 气相色谱法; 四氯化碳; 微电子捕获检测器; 来曲唑

中图分类号: R927.12

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)09-0843-03

Determination of Tetrachloromethane in Letrozol by Headspace Analysis with μ -ECD

WANG Yuqin, LIU Li, LIU Jieheng(Guangdong Provincial Public Laboratory of Analysis and Testing Technology, Chinese National Analytical Center, GuangZhou 510070, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the quantitative determination of tetrachloromethane in Letrozol by GC. **METHODS** Tetrachloromethane was analyzed by Gas Chromatography with SE-30 column, μ -ECD detector, and programming temperature from 50 °C to 150 °C. **RESULTS** Experimental results showed that a good separation of tetrachloromethane with other contents of sample was achieved on SE-30 column, and the separation degree was more than 2.0. The calibration curves of solvent was linear in 0.000 516~0.020 64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The limit of detection was 0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, accurate and precise, and can be used for the quality control of residual tetrachloromethane in Letrozol.

KEY WORDS: gas chromatography; tetrachloromethane; μ -ECD; Letrozol

来曲唑是新一代芳香化酶抑制剂,为人工合成的呋三唑类衍生物,来曲唑通过抑制芳香化酶,使雌激素水平下降,从而消除雌激素对肿瘤生长的刺激作用。与其他芳香化酶抑制剂和抗雌激素药物相比,来曲唑的抗肿瘤作用更强^[1-2]。来曲唑

也是新型的促排卵药物,用它来促排卵是最新的方法,即芳香剂疗法。由于该药在制备工艺中使用了四氯化碳,药典^[3]规定四氯化碳的含量限度为 0.000 4%,故有必要在质量标准中对四氯化碳的含量进行有效控制。笔者建立并验证的分析方法

作者简介: 王玉芹,女,硕士,助理研究员

Tel: (020)87686303

E-mail: wyqczp@yahoo.com.cn