DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.23.030
第25卷第23期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 23
2003年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2003

文章编号:1000-5404(2003)23-2135-03

论著

HPLC法测定复方克林霉素磷酸酯溶液中主药的含量

罗 东[1],王章阳[1],夏培元[1],代 青[1],冉光炳[1],彭 蓓[2] ([1]第三军医大学附属西南医院药学部,重庆 400038;[2]沙坪坝区人民医院药剂科,重庆 400036)

提 要:目的 建立高效液相色谱法测定复方克林霉素磷酸酯溶液中克林霉素磷酸酯含量和同时测定甲硝唑、水杨酸的含量。方法 克林霉素磷酸酯紫外检测波长为210 nm,流动相为磷酸二氢钾—乙腈(75∶25);甲硝唑、水杨酸的紫外检测波长为290 nm,流动相为磷酸二氢钾—乙腈(80∶20)。结果 克林霉素磷酸酯、甲硝唑和水杨酸的平均回收率分别为100.25%、101.22%、100.90%,RSD分别为2.34%、1.34%、1.04%。结论 本方法简单易行,快速准确,有利于该制剂的分析。

关键词:HPLC;克林霉素磷酸酯;甲硝唑;水杨酸
中图法分类号:R917;R927.2 文献标识码:A

Contents of the main ingredients in compound clindamycin phosphate solution detected by HPLC

LUO Dong, WANG Zhang-yang, XIA Pei-yuan, DAI Qing, RAN Guang-bing, PENG Bei (Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To determine the contents of clindamycin phosphate, metronidazole and salicylic acid in compound clindamycin phosphate solution by the high performance liguid chromatography (HPLC). **Methods** Clindamycin phosphate at 210 nm and metronidazole and salicylic acid at 290 nm were determined under the conditions of potassium dihydrogen phosphate solution and acetonitrile at the ratios of 75∶25 and 80∶20 as the mobile phases, respectively. **Results** The detected average recoveries of clindamycin phosphate, metronidazole and salicylic acid were 100.25%, 101.22% and 100.90%, respectively. The relative standard deviations (RSD) were 2.34%, 1.34% and 1.04%, respectively. **Conclusion** HPLC method for the determination of clindamycin phosphate, metronidazole and salicylic acid is rapid, convenient and accurate. This method can be used for the quality control of the compound clindamycin phosphate solution.

Key words: HPLC; clindamycin phosphate; metronidazole; salicylic acid

复方克林霉素磷酸酯溶液临床用于治疗脂溢性皮炎、寻常性痤疮、毛囊炎性皮肤病等,其主要成分为克林霉素磷酸酯、甲硝唑和水杨酸。单个成分的含量测定方法较多[1~3],为控制该制剂的质量,采用HPLC法对本制剂中主药的含量进行测定,以不同的流动相比例测定克林霉素磷酸酯和同时测定甲硝唑、水杨酸的含量,可获得满意的结果。

1 仪器与试剂

美国Waters高效液相色谱仪(包括2487双波长检测仪,1525泵),德国Sartorius BP 211D电子天平,美国Beckman DU-650紫外分光光度计。

克林霉素磷酸酯对照品、甲硝唑对照品、水杨酸对照品(均由中国药品生物制品检定所提供),复方克林霉素磷酸酯溶液(克林霉素磷酸酯、甲硝唑、水杨酸含量分别为1%、2%、1%)由药学部制剂室提供,甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

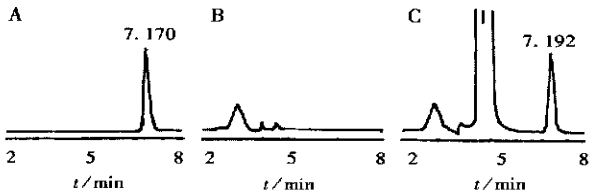
克林霉素磷酸酯:色谱柱Diamonsil™C_{18}(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相0.05 mol/L磷酸二氢钾-乙腈(75∶25),检测波长210 nm,流速1.0 ml/min,柱温30 ℃,灵敏度0.02AUFS。

在此条件下色谱图如图1。

甲硝唑、水杨酸:色谱柱Diamonsil™C_{18}(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相0.05 mol/L磷酸二氢钾-乙腈(80∶20),检测波长290 nm,流速1.0 ml/min,柱温30 ℃,灵敏度0.02 AUFS。在此条件下色谱图如图2。

作者简介:罗 东(1963-),女,重庆市人,副主任药师,主要从事医院制剂方面的研究,发表论文10余篇。电话:(023)68754438
收稿日期:2003-07-20;修回日期:2003-09-20

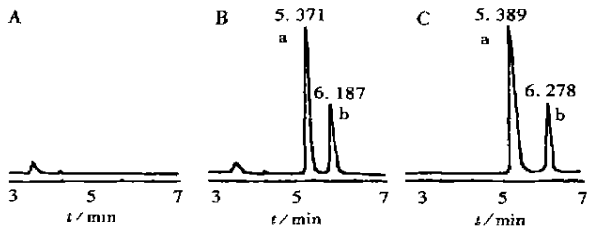
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



A: Standard; B: Blank; C: Sample

图1 克林霉素磷酸酯色谱图

Fig 1 Chromatograms of clindamycin phosphonate



A: Blank; B: Sample; C: Standard; a: Metronidazole; b: Salicylic acid

图2 甲硝唑和水杨酸色谱图

Fig 2 Chromatograms of metronidazole and salicylic acid

2.2 线性关系考察

2.2.1 克林霉素磷酸酯标准曲线 精密称定克林霉素磷酸酯对照品10 mg于10 ml容量瓶中，加甲醇溶解稀释至刻度，摇匀，制成标准贮备液，精密吸取0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 ml标准贮备液于5 ml容量瓶中，加甲醇稀释定容，摇匀，制成系列标准液，在已确定的色谱条件下进样10 μl，测定峰面积积分值，以浓度(C)和峰面积积分值(A)进行线性回归，其回归方程为：$A=2\,509C+8\,110$，$r=0.999\,9$，线性范围为40.0～1 000.0 μg/ml。

2.2.2 甲硝唑、水杨酸标准曲线 精密称定甲硝唑对照品10mg和水杨酸对照品5 mg于10 ml容量瓶中，加甲醇溶解稀释至刻度，摇匀，制成标准贮备液，精密吸取0.1、0.2、0.4、0.8、2.0 ml标准贮备液置10 ml容量瓶中，加甲醇稀释定容，摇匀，制成系列标准液，在已确定的色谱条件下进样10 μl，测定峰面积积分值，以浓度(C)和峰面积积分值(A)进行线性回归，甲硝唑的回归方程为：$A=14\,275C-8\,110$，$r=0.999\,9$，线性范围为10.0～200.0 μg/ml；水杨酸的回归方程为：$A=89\,042C+1\,489$，$r=0.999\,9$，线性范围为5.0～100.0 μg/ml。

2.3 精密度试验

分别配制高、中、低3个浓度的克林霉素磷酸酯溶液和甲硝唑、水杨酸溶液，其中克林霉素磷酸酯浓度分别为1 000、200、40 μg/ml，甲硝唑、水杨酸浓度均分别为100、40、20 μg/ml。测定峰面积，计算其日内RSD和日间RSD，结果见表1。

2.4 加样回收率试验，结果见表2

2.4.1 克林霉素磷酸酯加样回收 分别精密吸取已知含量供试品液1 ml 3份置50 ml容量瓶中，分别加入一定量的克林霉素磷酸酯对照品液，加甲醇稀释至刻度，混匀，依法测定，并计算回收率。

2.4.2 甲硝唑、水杨酸加样回收 分别精密吸取已知含量供试品液0.2 ml 3份置100 ml容量瓶中，分别加入一定量的甲硝唑、水杨酸对照品液，加甲醇稀释至刻度，混匀，依法测定，并计算其回收率。

表1 日内及日间精密度测定结果($n=5$)

Tab 1 The results of the intra- and inter-day precision($n=5$)

Sample	Intra-day RSD(%)			Inter-day RSD(%)		
	H	M	L	H	M	L
Clindamycin hosphonate	1.35	1.23	0.38	1.09	0.78	0.76
Metronidazole	0.29	0.22	0.41	0.80	0.56	0.58
Salicylic acid	0.25	0.49	1.65	0.66	0.25	1.83

H: High concentration; M: Middle concentration; L: Low concentration

表2 回收率测定结果($n=3$)

Tab 2 The result of recovery ($n=3$)

Samples	Concentration (μg/ml)	Added (μg/ml)	Measured (μg/ml)	recovery (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
Clindamycin hosphonate	76.78	40	94.7	97.85		
	76.78	100	177.46	100.38	100.25	2.34
	76.78	500	591.39	102.53		
Metronidazole	20.70	20	41.63	102.29		
	20.70	40	61.35	101.69	101.22	1.34
	20.70	100	120.32	99.69		
Salicylic acid	9.39	5	14.38	99.93		
	9.39	10	19.78	102.01	100.90	1.04
	9.39	50	59.84	100.76		

2.5 样品测定，见表3

2.5.1 克林霉素磷酸酯测定 精密吸取供试品1 ml(约相当于克林霉素磷酸酯10 mg)于50 ml容量瓶中，加甲醇稀释溶解至刻度，摇匀。精取10 μl进样，测定峰面积，以外标法计算克林霉素磷酸酯含量及标示量。

2.5.2 甲硝唑、水杨酸测定 精密吸取供试品0.5 ml(约相当于甲硝唑10 mg，水杨酸5 mg)于100 ml容量瓶中，加甲醇稀释溶解至刻度，摇匀。精取10 μl进样，测定峰面积，以外标法计算甲硝唑、水杨酸含量及标示量。

表3 样品测定结果($n=3$)

Tab 3 Result of sample determined ($n=3$)

Batch	Drug	Concentration(μg/ml)	Labeled amount(%)
030403	Clindamycin hosphonate	200.20	100.10
	metronidazole	106.00	106.00
	salicylic acid	47.78	95.56
030416	Clindamycin hosphonate	190.52	95.26
	metronidazole	101.75	101.75
	salicylic acid	46.92	93.84
030428	Clindamycin hosphonate	188.92	94.46
	metronidazole	102.05	102.05
	salicylic acid	46.05	92.10

3 讨论

痤疮形成的基本原因是皮脂分泌过多，痤疮丙酸

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

杆菌的增生, 毛囊角化异常, 毛囊虫的影响等[4]。吴绍熙等[5]从患者皮疹部位做厌氧及需氧细菌培养, 其痤疮丙酸杆菌阳性率达 50%以上, 其它细菌 50%左右, 而痤疮丙酸杆菌为厌氧菌。磷酸克林霉素对需氧革兰阳性菌和厌氧菌均有较强抗菌活性[6], 特别对引起寻常痤疮的致病菌如痤疮丙酸杆菌和金葡菌等有较好的抗菌作用, 外用既能杀灭病菌又能消除症状如脓疱、丘疹、粉刺等。复方克林霉素磷酸酯溶液还针对痤疮患者单用克林霉素所不能杀灭的革兰阴性厌氧菌和增生的毛囊虫等问题, 加入了一定比例的对厌氧菌及增生的毛囊虫有杀灭作用的甲硝唑, 使其起到相互协同互补作用, 弥补了单一克林霉素药理作用的不足, 而水杨酸有抗真菌、止痒及溶解角质的作用, 可改善毛囊角化异常。此新配方的配制提高了治疗脂溢性皮炎、痤疮、细菌感染引起的毛囊性皮肤病疗效, 而且还有副反应低, 用药简便等特性。

本实验曾考虑用同一流动相比例测定 3 种成分的含量, 当流动相为 0.05 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈(80∶20)时, 甲硝唑、水杨酸和克林霉素磷酸酯的柱效高, 分离良好, 并且峰形对称, 甲硝唑、水杨酸的保留时间分别为 5.4、6.2 min, 但克林霉素磷酸酯的保留时间为 17.3 min, 这样使整个实验太费时, 故调整流动相的比例, 当 0.05 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈的比例为 75∶25 时, 克林霉素磷酸酯的保留时间为 7.2 min, 与甲硝唑、水杨酸二组份能得到良好的分离, 且峰形好, 故选择同一流动相的不同比例来测定其含量。测定 3 批复方克林霉素磷酸酯溶液中主药的含量, 其含量的标示量范围为 92.10%~106.00%, 表明测定结果准确可靠, 可用于该制剂的含量测定。

参考文献:

[1] Fieger Buschges H, Schussler G, Larsimont V, *et al*. Determination of clindamycin in human plasma by high-performance liquid chromatography using coupled columns[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999, 724(2): 281-286.

[2] Menelaou A, Somogyi A A, Barclay M L *et al*. Simultaneous quantification of amoxycillin and metronidazole in plasma using high-performance liquid chromatography with photodiode array detection[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999, 731(2): 261-266.

[3] 刘晋华, 李建新, 李冬梅, 等. 高效液相色谱法测定复方替硝唑搽剂中替硝唑和水杨酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(5), 329-331.

[4] 方跃明, 王金良. 现代实用皮肤性病学及美容学[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 1995. 383.

[5] 吴绍熙, 范志莘, 钱伯源, 等, 克林霉素磷酸酯凝胶多中心治疗寻常痤疮[J]. 中华皮肤科杂志, 1998, 31(5): 338-339.

[6] 吴永乐, 王宇倩, 吴卫红, 等, 克林霉素体外抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 1996, 21(6): 427-431.

(编辑　张大春)

(上接 2134 页)

表 2　各种止血药物及用法

药品名称	用法及用量	病例数
洛赛克	20~40 mg 加入生理盐水 40 ml 静脉推注, 2 次/d	13
立止血	1 000 U 肌肉注射, 4~6 次/d	8
凝血酶	500~1 000 U+温牛奶 50 ml 胃内注入, 1 次/h, 4~6 次/d	6
冰盐水加肾上腺素	冰盐水 50~100 ml+肾上腺素 2~4 mg 胃内注入, 4~6 次/d	16
止血敏	1.5~3.0 g 加入葡萄糖或盐水中静脉点滴, 2 次/d	16
云南白药或生大黄粉[1]	5~30 g 加盐水 50 ml 拌匀胃内注入, 4~6 次/d	10

2　结果

治愈 13 例, 死亡 3 例, 病死率 18.7%。内科治愈 11 例, 手术治愈 2 例, 死亡 3 例为内科治疗无效需手术治疗而未手术或未及时手术病例。死亡原因: 多脏器功能衰竭。

3　讨论

烧伤后消化道应激性溃疡出血是烧伤常见并发症, 发病率极高[2]。消化道大出血比较少见, 多发生于重度或特重度烧伤大手术后, 是最严重的烧伤并发症之一, 死亡率较高, 治疗比较棘手。由于病情急、危、重, 需尽快止血。目前尚无特效止血药, 我们的经验是联合用药, 多种办法齐用, 使之产生协同作用, 达到迅速止血的目的。首选内科治疗, 防治失血性休克, 联合用药, 选择 3~6 种同时应用, 效果良好, 24 h 内多数能止血。

内科治疗无效的大出血手术是有效的治疗方法[3]。对于出血量巨大, 药物止血无效的病例, 应手术治疗, 以免失血量过多, 导致重要脏器功能衰竭而贻误抢救时机。手术方式根据患者情况选择胃迷走神经切断+胃次全切除术, 或简单的结扎止血术。当然, 术前做好患者思想工作, 解除其顾虑配合手术治疗是抢救成功的前提。

早期积极的预防措施[4], 包括抑制胃酸分泌, 保护胃肠粘膜能有效减少大出血的发生。对中重度烧伤, 给予甲氰咪胍加维生素 A、D, 特重烧伤用洛赛克加维生素 A、D 或硫糖铝、果胶铋等, 疗程 2~3 周, 大手术前后再用 1~2 周。近 7 年来我科由于采取了有效的预防措施, 发病率明显下降。

关键词: 烧伤; 消化道出血; 治疗
中图法分类号: R644; R573.1　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 焦东海, 杜上鉴. 大黄研究[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000. 353-382.

[2] 黎　鳌. 烧伤学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 415-422.

[3] 刘路亮, 袁克俭. 烧伤并发应激性溃疡的临床特点及其手术治疗[J]. 中华外科杂志, 1981, 19(11): 645-655.

[4] 吴在德. 外科学[M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 634-640

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net