

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.18.021

高效液相色谱法测定复方鱼肝油氧化锌软膏中呋喃西林含量*

苗会娟,徐艳梅,王春霞,盖 成,高燕霞[△]

(河北省药品医疗器械检验研究院·国家药品监督管理局仿制药质量控制与评价重点实验室,河北 石家庄 050200)

摘要:目的 建立测定复方鱼肝油氧化锌软膏中呋喃西林含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Welch Xtimate C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 0.2% 三乙胺溶液(冰醋酸调 pH 至 4.0)-乙腈(80:20, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 375 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 20 μL。结果 呋喃西林质量浓度在 0.50~106.00 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9987$, $n=6$);检测限为 0.1 μg/mL,定量限为 0.3 μg/mL;精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%;平均加样回收率为 101.06%,RSD 为 1.97%($n=6$)。结论 该方法操作简便,专属性强,重复性好,可用于复方鱼肝油氧化锌软膏中呋喃西林的含量测定。

关键词:复方鱼肝油氧化锌软膏;高效液相色谱法;呋喃西林;含量测定

中图分类号:R917;R927.2

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)18-0085-03

Content Determination of Nitrofurazone in Compound Cod Liver Oil and Zinc Oxide Ointment by HPLC

MIAO Huijuan, XU Yanmei, WANG Chunxia, GE Cheng, GAO Yanxia

(Hebei Institute for Drug and Medical Device Control · NMPA Key Laboratory for Quality Control and Evaluation of Generic Drug, Shijiazhuang, Hebei, China 050200)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the content determination of nitrofurazone in Compound Cod Liver Oil and Zinc Oxide Ointment. **Methods** The chromatographic column was Welch Xtimate C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.2% triethylamine solution (adjust the pH to 4.0 with glacial acetic acid)-acetonitrile (80:20, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 375 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μL. **Results** The linear range of nitrofurazone was 0.50-106.00 μg/mL ($r=0.9987$, $n=5$). The limit of detection (LOD) was 0.1 μg/mL, and the limit of quantification (LOQ) was 0.3 μg/mL. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.0%. The average recovery of nitrofurazone was 101.06% with an RSD of 1.97% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, specific and reproducible, which can be used for the content determination of nitrofurazone in Compound Cod Liver Oil and Zinc Oxide Ointment

Key words: Compound Cod Liver Oil and Zinc Oxide Ointment; HPLC; nitrofurazone; content determination

复方鱼肝油氧化锌软膏又名复方氧化锌鱼肝油软膏,为皮肤科非处方药。其是由鱼肝油、呋喃西林、氧化锌、石蜡等制成的复方脂溶性软膏,主要用于治疗急性皮炎、冻疮、轻度烧伤等^[1-4]。呋喃西林属防腐消毒药,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及大肠杆菌等有

较好抗菌作用^[5]。复方鱼肝油氧化锌软膏现行质量标准收载于《国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准(第六册)》[WS₁-43(B)-89],其中缺少呋喃西林含量控制项,给药品质量控制、市场监管、医院和患者用药产生了不可预知的影响。为保证用药安全,本研究中国

*基金项目:河北省2021年度医学科学研究课题[20211193]。

第一作者:苗会娟,女,硕士研究生,工程师,研究方向为化学药品检测与质量控制,(电子信箱)miaohj13833470531@163.com。

[△]通信作者:高燕霞,女,博士研究生,高级工程师,研究方向为药物分析,(电子信箱)155270849@qq.com。

- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:10-11.
- [11] 王小宁,冯锁民,张存芳. 酮洛芬滴丸剂的制备及其体外释放特性[J]. 化工科技,2015,23(6):24-27.
- [12] 金伟华,蒲志强,陈 华,等. 盐酸溴己新滴鼻剂的研制及含量测定与透皮性能评价[J]. 药学实践杂志,2019,37(2):166-169.
- [13] 刘淑华,赵志刚. HPLC法测定盐酸溴己新及其片剂的含量[J]. 中国药事,2008,22(1):68-69.

- [14] 丁 洁,王伟宁,孙 玲. RP-HPLC法测定盐酸溴己新片含量及有关物质[J]. 药物分析杂志,2006,26(4):508-510.
- [15] 金伟华,陈 华,于波涛,等. 盐酸溴己新栓剂的制备及含量测定[J]. 解放军药学报,2017,33(6):542-544.
- [16] 赵连民. 高效液相色谱法测定盐酸溴己新注射液的含量[J]. 中国当代医药,2010,17(8):112.
- [17] 吕竹芬,谢清春,申 楼. 高效液相色谱法测定心宝宁滴丸中金丝桃苷的含量[J]. 中南药学,2006,4(2):106-108.

(收稿日期:2021-09-23;修回日期:2022-03-26)

建立了测定呋喃西林含量的高效液相色谱(HPLC)法,并按人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)标准^[6]进行验证,旨在为复方鱼肝油氧化锌软膏的质量控制和监督提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Thermo U3000型高效液相色谱仪,包括DAD检测器(美国Thermo Fisher公司);XS105型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为十万分之一);PB-20型pH计(德国Sartorius公司,精度为0.01 pH);Mettmert D91126型恒温水浴振荡器(德国Memert公司,准确度为0.1℃)。

1.2 试药

复方鱼肝油氧化锌软膏(天津市金耀药业有限公司,批号分别为19030401,19030402,19030403,规格为每1g中含呋喃西林1mg);呋喃西林对照品(中国食品药品检定研究院,批号为101167-201001,含量99.4%)。三乙胺、乙腈均为色谱纯,冰醋酸为优级纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Welch Xtimate C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.2%三乙胺溶液(冰醋酸调pH至4.0)-乙腈(80:20, V/V),检测波长:375 nm,柱温:30℃;进样量:20 μL^[7]。

2.2 溶液制备

取呋喃西林对照品约10 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加N,N-二甲基甲酰胺1 mL使溶解并定容,摇匀,精密量取5 mL,置50 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得呋喃西林质量浓度约为10 μg/mL的对照品溶液。取样品约1 g,精密称定,置100 mL锥形瓶中,加水适量,置80℃水浴中剧烈振摇15 min使溶解,冷却至室温,全部转移至100 mL容量瓶中,用水定容,摇匀,滤

过,取续滤液,即得供试品溶液。按复方鱼肝油氧化锌软膏处方工艺制备缺呋喃西林的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备,即得阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验及专属性考察:精密吸取2.2项下3种溶液各20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱峰,详见图1。可见,阴性对照无干扰,理论板数按呋喃西林峰计均大于3 000,分离度均大于1.5,基线分离良好。

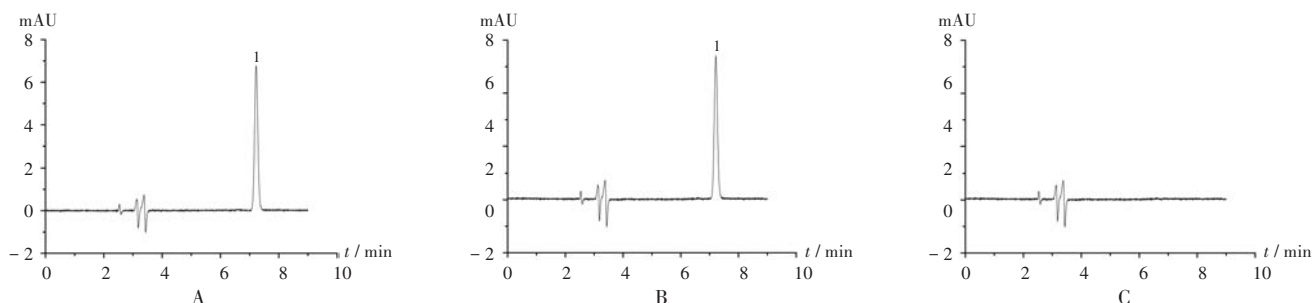
线性关系考察:取呋喃西林对照品约10.60 mg,精密称定,按2.2项下方法制备质量浓度为106.00 μg/mL的对照品贮备液,用水逐级稀释,得呋喃西林质量浓度分别为0.50,1.06,4.24,10.60,50.30,106.00 μg/mL的系列对照品溶液。按2.1项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.8375X - 0.7565$ ($r = 0.9987, n = 6$)。结果表明,呋喃西林质量浓度在0.50~106.00 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

定量限及检测限考察:往阴性样品中添加对照品溶液,作为检测供试品,按2.2项下方法制备供试品溶液,注入液相色谱仪,计算信噪比(S/N),分别以S/N为3和10时的质量浓度作为检测限及定量限。结果检测限为0.1 μg/mL,定量限为0.3 μg/mL。

精密度试验:取2.2项下对照品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果的RSD为0.48% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(批号为19030403)适量,分别于室温下放置0,2,4,8,12,22,24 h后,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的RSD为1.21% ($n = 7$),表明室温下供试品溶液放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为19030403)适量,按



1. 呋喃西林

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Nitrofurazone

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.2项下方法平行制备供试品溶液6份,再按2.1项下色谱条件连续测定6次,记录峰面积并计算含量。结果平均含量的RSD为0.96%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:称取已知含量样品(批号为19030403,呋喃西林含量为0.90 mg/g)6份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入呋喃西林对照品溶液(106.0 $\mu\text{g/mL}$)8 mL混匀,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

Tab.1 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.907 1	0.842 9	1.767 1	102.03	101.06	1.97
0.973 7	0.842 9	1.844 3	103.29		
1.001 2	0.842 9	1.836 2	99.06		
0.999 3	0.842 9	1.853 9	101.39		
0.903 0	0.842 9	1.765 4	102.31		
1.099 0	0.842 9	1.927 2	98.26		

2.4 样品含量测定

取3批样品(批号分别为19030401,19030402,19030403)内容物,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果3批样品中呋喃西林含量分别为86.34,89.62,84.67 mg/g,平均86.88 mg/g。

3 讨论

预试验中,对对照品溶液和供试品溶液进行了全波长扫描,结果最大波长为375 nm,峰纯度大于99%。取供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样,考察不同色谱柱[Agilent ZORABAX C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、Waters XBridge C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)及Welch Xtimate C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)],以不同液相色谱仪(日本Shimadzu LC-20A型、美国Agilent 1260型及美国Thermo Fisher U3000型)测定,结果均能满足系统适用性要求。流动相先后考察了乙腈-30 mmol/L磷酸氢二钠溶液(含0.1%三乙胺,50%磷酸调pH为3.0)(18:82, V/V)^[8]、甲醇-水(60:40, V/V)^[9]、甲醇-0.05 mol/L磷酸氢二钠(pH 7.0, 30:70, V/V)^[10]、乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢铵(pH 4.5, 20:80, V/V)^[11]及0.2%三乙胺溶液(冰醋酸调pH至4.0)-乙腈(80:20, V/V),发现加入三乙胺可减少呋喃西林色谱峰的拖尾,改善峰形,且该pH为4.0的条件下,与相邻峰的分度度最好,且不含无机盐,配制简单,因此,选定0.2%三乙胺溶液(冰醋酸调pH至4.0)-乙腈(80:20, V/V)作为流动相。

复方鱼肝油氧化锌软膏为多组分化学药,基质为无水羊毛脂和凡士林,为脂溶性基质,因此呋喃西林的提

取要综合考虑基质和其本身溶解性。呋喃西林在乙醇中微溶,在水中极微溶解,而无水羊毛脂和凡士林难溶于水与乙醇。根据这一差异,考察了乙醇、水作为提取的效果,结果显示,两者的测定结果和回收率基本一致。综合考虑环保和经济性等因素,选用水作为提取溶剂,同时依据正交试验原理^[12-15],考察了水浴温度、提取时间和锥形瓶体积等因素对提取结果的影响,结果显示,置100 mL锥形瓶中,80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热15 min的条件最佳。

综上所述,本研究中建立的方法分离效果和重复性均良好,测定结果准确,回收率高,可用于复方鱼肝油氧化锌软膏中呋喃西林的含量测定。

参考文献

- [1] 罗超兰,杨向东,张琦. 复方鱼肝油氧化锌软膏在肛肠术后换药的疗效观察[J]. 中医肛肠杂志, 2008, 28(11): 37.
- [2] 李政敏,范振国. 自拟润肤汤泡洗联合复方鱼肝油氧化锌软膏外用治疗掌跖角化性湿疹82例[J]. 中医外治杂志, 2010, 19(5): 14-15.
- [3] 薛凤娟,陈爽,张淑艳,等. 复方鱼肝油氧化锌软膏治疗新生儿尿布皮炎的疗效观察[J]. 医学与哲学(B), 2013, 34(8): 38-39.
- [4] 肖剑英,华凌. 复方鱼肝油氧化锌软膏治疗压疮临床观察[J]. 北方药学, 2013, 10(7): 42-43.
- [5] 房喻,任铸,向家兰,等. 呋喃西林、呋喃西林类似物及其铜(II)、锌(II)络合物的合成和抑菌作用[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 1987(1): 43-50.
- [6] ICH Expert Working Group. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)[EB/OL]. (2015-11-26)[2021-11-10]. http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines/Q2_R1_Guideline.pdf.
- [7] 柯雪红,桂雪虹,张升,等. HPLC法测定呋喃西林冲洗液的含量及有关物质[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(8): 1509-1512.
- [8] 湛雯,景霞,孙芳,等. HPLC法同时测定小儿复方呋喃西林滴鼻液中的盐酸麻黄碱与呋喃西林含量[J]. 安徽医药, 2016, 20(1): 50-53.
- [9] 尹怀文,罗晓梅. HPLC法同时测定地咪乳膏中呋喃西林和醋酸地塞米松的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(44): 4208-4210.
- [10] 戴安印,刘洁琼,谷娜,等. 反相高效液相色谱法同时测定呋喃粉中水杨酸、苯甲酸和呋喃西林含量[J]. 中国药业, 2019, 28(8): 14-16.
- [11] 许文雅,阎峰,关瑾. 高效液相色谱法测定呋喃西林原料药的含量[J]. 沈阳化工大学学报, 2018, 32(2): 127-130.
- [12] 彭华,宋霞,张春. 正交法优化“胭脂萝卜”红色素超声提取工艺[J]. 中国农业学报, 2021, 37(27): 132-138.
- [13] 卞振华,张文明,唐静月,等. 正交试验优选生津润燥合剂制备工艺[J]. 中国药师, 2021, 24(1): 152-155.
- [14] 马俊鹏,周美霞,李晓倩,等. 正交试验优选铁力木花蕾总黄酮提取工艺[J]. 中国药业, 2021, 30(1): 38-41.
- [15] 郭小莉,高如意,许明君,等. 复方肉苁蓉酒提取工艺的优化[J]. 中成药, 2021, 43(9): 2469-2473.

(收稿日期:2021-11-20;修回日期:2022-03-14)