

# 高效液相色谱法测定氯霉素滴耳液的含量

★ 张锁西 (江苏省药品检验所 南京 210008)

关键词:高效液相色谱法;氯霉素;含量测定

中图分类号:TQ 460.7+2 文献标识码:A

氯霉素滴耳液的含量测定,《中国药典》(2000年版)采用微生物检定法,操作费时、繁琐。本文参照《美国药典》(2002, USP)规定的高效液相色谱法测定氯霉素的含量,可消除二乙醇物等杂质的干扰,测定方便,结果满意。

## 1 仪器、药品及试剂

美国惠普公司 Agilent1100 型高效液相色谱仪(包括 G1322A Degasser 在线脱气, G1311A quatum 四元泵, G1316A 柱温箱, G1314 VWD 紫外检测器, 惠普色谱工作站及自动进样器);氯霉素标准品(中国药品生物制品检定所);纯化水、甲醇均为色谱纯,冰醋酸为分析纯;氯霉素滴耳液(江苏神豆制药股份有限公司, 10 mL:0.25 g, 批号:030306, 030512)。

## 2 方法和结果

2.1 色谱条件下系统适应性试验 色谱柱:Nucleosil-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:水-甲醇-冰醋酸(55:45:0.1);流速:0.8 ml/min;检测波长:280 nm;进样量:10 μL;理论塔板数:按氯霉素计算应不低于 2 000。

2.2 标准曲线制作 取 105℃干燥恒重的氯霉素标准品适量,精密称定,用水-甲醇-冰醋酸(55:45:0.1)溶解并定量稀释成含氯霉素 0.625 0 g/L 的溶液,作为贮备液。分别精密量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 50 mL 量瓶中,用水-甲醇-冰醋酸(55:45:0.1)稀释至刻度,摇匀。放入自动进样瓶中,按上述色谱条件测定,记录色谱图,并以氯霉素的峰面积为纵坐标(Y),浓度为横坐标(X),进行线性回归。结果表明氯霉素在 25~125 mg/L 范围内,线性关系良好。回归方程  $Y = 25.376 1X + 4.537 9$ ,  $r = 0.999 8$  ( $n = 5$ )。

2.3 精密度试验 取线性关系中的浓度为 75.00 mg/L 的溶液,重复进样 5 次, RSD 为 0.08%。

2.4 重复性试验 分别取同批样品的 3 份,制成 3 个不同浓度的样品溶液,各测定 3 次,其 RSD 为 0.7% ( $n = 6$ )。

2.5 溶液稳定性 取线性关系中的浓度为 75.00

mg/L 的溶液分别放置 1、2、3、4、5、6 小时后测定。结果表明,本溶液在 6 小时内稳定,其峰面积基本不变。

2.6 加样回收率试验 精密称取氯霉素标准品适量(共 5 份),用流动相稀释配制成 75 mg/L 浓度,按样品测定方法测定,外标法计算。测得平均回收率为 99.83%, RSD 为 0.21%, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果( $n = 5$ )

| 序号 | 加入量/mg·L <sup>-1</sup> | 实测量/mg·L <sup>-1</sup> | 回收率(%) |
|----|------------------------|------------------------|--------|
| 1  | 75.18                  | 75.08                  | 99.87  |
| 2  | 75.88                  | 75.62                  | 99.66  |
| 3  | 74.92                  | 75.01                  | 100.12 |
| 4  | 74.78                  | 74.48                  | 99.60  |
| 5  | 75.03                  | 74.96                  | 99.91  |

2.7 干扰试验 按厂方处方配比,分别加辅料不加样品,按样品测定方法测定,结果表明辅料对测定无干扰。

2.8 样品测定 精密取样品溶液 5 mL 至 50 mL 量瓶中加水至刻度,摇匀,分别精密量取 1、2、3、4 mL 至 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度。另精密称取标准品适量后制成 75 mg/L 的浓度,照上述色谱条件测定,按外标法计算含量。测得两批样品含量分别为 90.13%、91.26%; RSD 分别为 0.62% ( $n = 3$ )、0.51% ( $n = 3$ )。

## 3 讨论

(1)《中国药典》(2000 版)测定氯霉素滴耳液含量的方法是抗生素微生物检定法。与本文高效液相色谱法相比较,抗生素微生物检定法操作复杂、费时;HPLC 法测定含量简便、快速、准确。

(2)2000 版药典规定氯霉素滴耳液要检查杂质二乙醇物,用抗生素微生物检定法测定含量时,二乙醇物对含量有干扰。

(3)同一批样品用高效液相色谱法测定含量,其结果比抗生素微生物检定法测定的结果低,主要原因是微生物检定法测定含量时杂质也会产生生物活性,使测定结果偏高。

(收稿日期:2004-08-27)