

HPLC 法同时测定复方苯海拉明霜中氢化可的松和盐酸苯海拉明的含量

尹兴章¹ 张莉琦² 朱洪娟² 刘欢²

1 保山市药品检验检测研究院, 云南保山, 678000;

2 大理大学药学院, 云南大理, 671000;

摘要: 目的: 建立 HPLC 法同时测定复方苯海拉明霜中氢化可的松和盐酸苯海拉明含量的方法。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-CN (5 μ m, 150mm $\times$ 4.6mm), 流动相为乙腈-水-三乙胺 (50:50:0.5) (用冰醋酸调节 pH 至 6.5), 流速为 0.5 mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长为 258nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 进样量为 10 μ L, 对方中氢化可的松和盐酸苯海拉明含量进行定量测定。结果: 氢化可的松、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为 5.016~37.62 μ g $\cdot$ mL⁻¹ ($r=0.9999$)、20.06~150.4 μ g $\cdot$ mL⁻¹ ($r=0.9999$); 平均回收率分别为 97.5% (RSD=1.2%, $n=9$), 98.5% (RSD=0.9%, $n=9$)。结论: 本方法操作简便、快捷, 结果准确、可靠、重复性好, 可用于复方苯海拉明霜的质量控制。

关键词: 复方苯海拉明霜; 氢化可的松; 盐酸苯海拉明; HPLC 法

Simultaneous Determination of Hydrocortisone and Diphenhydramine Hydrochloride in Compound Diphenhydramine Cream by HPLC

YIN Xingzhang¹, ZHANG Liqi², ZHU Hongjuan², LIU Huan²

1. Baoshan Pharmaceutical Inspection and Testing Institute, Baoshan YUNNAN 678000, China;

2. College of Pharmacy, Dali University, Dali YUNNAN 671000, China;

ABSTRACT : OBJECTIVE: To establish a HPLC method for simultaneous determination of hydrocortisone and diphenhydramine hydrochloride in compound diphenhydramine cream. METHODS: HPLC method was used, the column was Agilent Eclipse XDB-CN (5 μ m, 150mm $\times$ 4.6mm), the mobile phase was acetonitrile-water-triethylamine (50:50:0.5) (pH adjusted to 6.5 with glacial acetic acid), the flow rate was 0.5 mL $\cdot$ min⁻¹. The detection wavelength was 258 nm, the column temperature was 30 $^{\circ}$ C, and the injection amount was 10 μ L. The content of hydrocortisone and diphenhydramine hydrochloride in the prescription was quantitatively determined. RESULTS: The linear concentrations of hydrocortisone and diphenhydramine hydrochloride were 5.016~37.62 μ g $\cdot$ mL⁻¹ ($r=0.9999$), 20.06~150.4 μ g $\cdot$ mL⁻¹ ($r=0.9999$), respectively. The average recovery was 97.5% (RSD=1.2%, $n=9$), 98.5% (RSD=0.9%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate, reliable and reproducible, and can be used for quality control of compound diphenhydramine cream.

KEYWORDS: Compound diphenhydramine cream; hydrocortisone; diphenhydramine hydrochloride; HPLC

DOI:10.69979/3029-2808.24.9.002

复方苯海拉明霜, 别名湿疹霜, 收载于医院制剂检验手册, 该药由盐酸苯海拉明、氢化可的松、甘油、油/水型霜剂基质组成, 是保山市人民医院自制医院制剂, 具有抗炎、抗过敏作用, 适用于治疗瘙痒性皮肤病^[1]。

目前, 该制剂质量标准仅以鉴别项目进行质量控制, 无含量测定^[1], 文献仅对复方苯海拉明霜建立了盐酸苯海拉明含量测定方法^[2], 未见测定氢化可的松的含量的文献报道, 为更好地控制复方苯海拉明霜的质量, 本研究参考文献^[3-14], 采用高效液相色谱法建立了同时测定

该制剂中氢化可的松和盐酸苯海拉明含量测定方法, 经方法学验证, 其操作简便, 结果准确, 可为复方苯海拉明霜的质量控制和评价提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 包括 G1322A 在线脱气机, G1311C 四元泵, G1329B 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315D 检测器, Rev.B.04.03^[4] 色谱数据处理

系统（美国安捷伦科技有限公司），XPE 205 型高精电子分析天平（梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司），SevenExcellence 400K 型 PH 多参数测定仪（梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司），A2S-10-BE 型超纯水仪（美国艾科浦国际有限公司），XMTD-S-4 型电热恒温水浴锅（北京市永光明医疗仪器厂）。

1.2 药品与试剂

复方苯海拉明霜（保山市人民医院药剂科自制，20190322、20190409、20190518、20190616），氢化可的松对照品（批号：100152-201707，纯度：99.2%）、盐酸苯海拉明对照品（批号：100066-200807，纯度：99.9%）均购自中国食品药品检定研究院；乙腈（色谱纯）德国 Merck 公司，三乙胺（分析纯）天津市大茂化学试剂厂，冰醋酸（分析纯）成都市科隆化学品有限公司，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：Agilent Eclipse XDB-CN(150mm×4.6mm, 5μm)；流动相：乙腈-水-三乙胺(50:50:0.5)（用冰醋酸调节 pH 至 6.5）；流速：0.5mL·min⁻¹；检测波长：258nm；柱温：30℃；进样量：10μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液

精密称取氢化可的松对照品 25.14mg，置 10mL 容量瓶中，加流动相溶解并定容，摇匀，即得氢化可的松对照品贮备液；精密称取盐酸苯海拉明对照品 127.70mg 置 10mL 容量瓶中，加流动相溶解并定容，摇匀，即得盐酸苯海拉明对照品贮备液，取上述贮备液各 1mL 置同一 100mL 容量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得氢化可的松、盐酸苯海拉明质量浓度分别为 24.9、127.6μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液

精密称取供试品 1g，置 100mL 容量瓶中，加流动相约 50mL，80℃ 水浴加热溶解，放置室温，用流动相稀释至刻度，摇匀，至冰浴中冷却，过滤，弃去初滤液，取续滤液经 0.45μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液

取甘油、油/水型霜剂基质按处方量制成不含氢化可的松和盐酸苯海拉明阴性对照品，按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 系统适应性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10μL，按“2.1”项下色谱条件进行测定，记录色谱图，结果，在上述色谱条件下，氢化可的松和盐酸苯海拉明的理论塔板数分别为 9718、11750，分离度为 11.01，阴性对照对测定无干扰。色谱图见图 1。

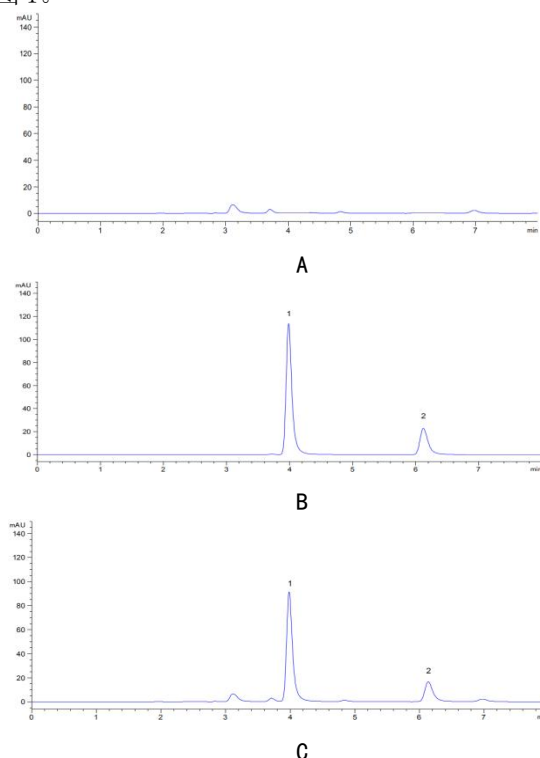


图 1 高效液相色谱图

A. 阴性对照溶液；B. 混合对照品溶液；C. 供试品溶液；1. 氢化可的松；2. 盐酸苯海拉明

2.4 线性考察

精密称取氢化可的松对照品 25.28mg、盐酸苯海拉明对照品 100.38mg，置同一 20mL 容量瓶中，加流动相溶解并定容，摇匀，即得混合对照品贮备液，分别精密量取混合对照品贮备液 0.2、0.5、0.8、1.0、1.2、1.5mL 分别置 50mL 容量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，即得系列混合对照品溶液，取上述系列混合对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进行测定，记录峰色谱图，以氢化可的松、盐酸苯海拉明质量浓度（C，μg·mL⁻¹）为横坐标、峰面积（A）为纵坐标进行线性回归，结果

见表 1。

表 1 各成分线性关系考察结果 (n=6)

成分	线性方程	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	r
氢化可的松	$Y=29.71X+9.0976$	5.016~37.62	0.9999
盐酸苯海拉明	$Y=1.5874X+1.5811$	20.06~150.4	0.9999

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量，逐级稀释，按“2.1”项下色谱条件进行测定。当信噪比 $S/N \approx 10$ 时，得定量限，当信噪比 $S/N \approx 3$ 时，得检测限，结果，氢化可的松、盐酸苯海拉明定量限分别为 0.1247 、 $1.595\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，检测限分别为 0.08313 、 $0.8505\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量，按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次。结果氢化可的松、盐酸苯海拉明峰面积的 RSD 分别为 0.2%、0.1%。

2.7 重复性试验

精密称取批号为 20190616 的供试品 6 份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进行测定供试品含量。结果，氢化可的松、盐酸苯海拉明的平均含量分别为 2.012 、 $10.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 分别为 0.7%、0.6% (n=6)，表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取“2.2.2”项下批号为 20190616 的供试品溶液适量，分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24h，按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果，氢化可的松、盐酸苯海拉明以峰面积计算 RSD 分别为 0.4%、0.5% (n=6)，表明供试品溶液在室温下放置 24h 内稳定性良好。

2.9 回收率试验

取批号为 20190616 的供试品 9 份，约 0.5g，精密称定，分别按供试品含量的 80%、100%、120% 加入氢化可的松、盐酸苯海拉明对照品，每个浓度各制备 3 份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进行测定，计算回收率，结果见表 1。

见表 1 回收率试验结果 (n=9)

待测成分	含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
氢化可的松	1.0505	1.0031	2.0174	96.4	97.5	1.2
	1.0516	1.0031	2.0407	98.6		
	1.0503	1.0031	2.0195	96.6		
	1.0503	1.2539	2.2643	96.8		
	1.0499	1.2539	2.2573	96.3		
	1.0514	1.2539	2.2984	99.5		
	1.0514	1.5047	2.5204	97.6		
	1.0518	1.5047	2.5096	96.9		
	1.0520	1.5047	2.5336	98.5		
	1.0520	1.5047	2.5336	98.5		
盐酸苯海拉明	5.1245	4.0112	9.0163	97.0	98.5	0.9
	5.1296	4.0112	9.0446	97.6		
	5.1235	4.0112	9.0741	98.5		
	5.1235	5.0140	10.0752	98.8		
	5.1215	5.0140	10.0487	98.3		
	5.1286	5.0140	10.1192	99.5		
	5.1286	6.0168	11.0676	98.7		
	5.1306	6.0168	11.0348	98.1		
	5.1316	6.0168	11.1264	99.6		
	5.1316	6.0168	11.1264	99.6		

2.10 样品含量测定

取 4 批供试品适量，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进行测定，按外标法以峰面积计算氢化可的松、盐酸苯海拉明的含量，结果见表 2。

表 2 含量测定结果 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, n=3)

批号	氢化可的松	盐酸苯海拉明
20190322	1.9440	10.5866

20190409	2.1662	10.4702
20190518	1.9415	10.2129
20190616	2.0749	10.1215

3 讨论

3.1 色谱条件与溶剂的选择

根据相关文献和质量标准，考察了方法一：Agilent ZORBAX SB-C18 (150mm×4.6mm, 5 μm)，流动相：乙腈-水 (28:72)，流速：1.0mL·min⁻¹；方法二：Agil

ent HC-C18 (150mm×4.6mm, 5μm), 流动相: 乙腈-水-三乙胺 (50:50:0.5) (用冰醋酸调节 pH 至 6.5), 流速: 1.0mL·min⁻¹; 方法三: 色谱柱 Agilent Eclipse XDB-CN (150mm×4.6mm, 5μm), 流动相: 乙腈-水-三乙胺 (50:50:0.5) (用冰醋酸调节 pH 至 6.5), 流速: 0.5mL·min⁻¹; 通过实验, 方法一和方法二基质对主成分峰有干扰且分离度、峰形、稳定性均不够理想, 而方法三的色谱达到较好分离, 无拖尾现象, 保留时间适宜, 峰型也较好, 理论塔板高, 主成分峰不受基质与杂质干扰, 且峰形好, 灵敏度高。因此, 选择方法三作为本试验的色谱条件。

本实验选择甲醇、乙腈、水、无水乙醇、流动相为溶剂, 结果甲醇、乙腈、水、无水乙醇作为溶剂, 色谱峰的峰形、拖尾因子不够理想, 而用流动相做溶剂色谱峰的峰形、拖尾因子良好, 因此选择流动相为溶剂。

3.2 检测波长的选择

用 DAD 检测器在 200~400nm 的波长范围内对盐酸苯海拉明、氢化可的松扫描紫外吸收图谱, 氢化可的松在 240nm 波长处出现最大吸收峰, 而盐酸苯海拉明在 258nm 处出现最大吸收峰, 结合 2015 年版《中国药典》氢化可的松与盐酸苯海拉明的检测方法^[15], 通过实验验证, 综合考虑分离度、峰形、灵敏度、对称因子, 选择 258nm 作为检测波长。

综上所述, 本实验方法可有效测定氢化可的松、盐酸苯海拉明的含量, 且操作简便、快捷, 结果准确、重复性好, 可为复方苯海拉明霜的质量控制和评价提供依据。

参考文献

- [1] 云南卫生厅, 医院制剂检验手册[S], 昆明: 云南科技出版社, 1986: 366-367.
- [2] 张满常, 刘宗昆. HPLC 测定复方苯海拉明霜中盐酸苯海拉明含量, [J]. 海峡药学, 2014, 26 (10): 55-56.
- [3] 安珍珍, 杨云, 任磊, 等. RP-HPLC 测定复方苯海拉明滴鼻液中 3 种成分的含量, [J]. 中国药房, 2017, 28 (18): 2573-2575.

- [4] 孙芳, 景霞, 湛雯, 等. 高效液相色谱法测定复方苯海拉明乳膏中盐酸苯海拉明的含量, [J]. 儿科药理学杂志, 2016, 22 (9): 48-50.
 - [5] 白林, 范金钊, 蔡乐, 等. HPLC 法测定盐酸苯海拉明乳膏的含量, [J]. 中国药物应用与监测, 2014, 11 (6): 348-350.
 - [6] 王英超, 于泽, 王鹏, 等. 高效液相色谱法测定苯海拉明乳膏中盐酸苯海拉明的含量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18 (05): 657-659.
 - [7] 余晚霞, 施玉旋, 朱桦. 苯海拉明软膏中盐酸苯海拉明的含量测定[J]. 中国实用医药, 2014, 9 (22): 3-4.
 - [8] 康斯丹, 王维. HPLC 法同时测定氯霉素氢化可的松搽剂中氯霉素和氢化可的松的含量[J]. 海峡药学, 2012, 24 (06): 50-52.
 - [9] 李兴, 段立广. HPLC 法测定冠心膏中盐酸苯海拉明的含量[J]. 中国实用医药, 2012, 7 (12): 260-261.
 - [10] 廖炯, 黄月纯, 丘振文, 等. HPLC 法测定苯海拉明麻黄素滴鼻液中盐酸苯海拉明含量[J]. 亚太传统医药, 2018, 14 (05): 33-35.
 - [11] 孟新芳, 徐长根, 耿庆光, 等. HPLC 法测定复方鼻炎膏中盐酸麻黄碱和盐酸苯海拉明的含量[J]. 西北药理学杂志, 2012, 27 (03): 216-218.
 - [12] 李傍娣, 程江. HPLC 法测定盐酸苯海拉明乳膏的含量[J]. 西北药理学杂志, 2012, 27 (01): 41-43.
 - [13] 钟桂香, 严佳, 周欣, 等. HPLC 法测定复方庆大霉素冲洗剂中呋喃西林和氢化可的松的含量[J]. 解放军药学报, 2015, 31 (06): 533-535.
 - [14] 张镭, 车慧, 吴艳, 等. HPLC 法测定止痒灵搽剂中盐酸苯海拉明的含量[J]. 解放军药学报, 2015, 31 (05): 414-416.
 - [15] 国家药典委员会, 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 765、1000.
- 作者简介: 尹兴章, 出生年月: 1987 年 6 月, 性别: 男, 民族: 汉族, 籍贯: 云南腾冲, 学历: 本科, 职称: 主管药师, 研究方向: 药品检验与质量分析。