

RP - HPLC 法测定曲安奈德益康唑乳膏中两组分的含量

何应龙¹, 罗娟², 谢云²

(1. 湖北中医药大学药物分析 2008 级硕士研究生, 湖北 武汉 430065; 2. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065)

摘要:目的 建立测定曲安奈德益康唑乳膏中两组分含量的反相高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Sepax Technologies C₈ 色谱柱(250mm × 4.6mm, 5μm), 以己烷磺酸钠 0.94g, 加乙腈 - 异丙醇 - 水(140:140:720)磷酸调节 pH 为 3.0 作为流动相 A, 以取己烷磺酸钠 0.94g, 加甲醇 - 水(900:100)磷酸调节 pH 为 3.0 作为流动相 B 梯度洗脱; 流速为 1.0mL/min; 检测波长为 227nm; 柱温为 40℃。结果 醋酸曲安奈德的线性范围为 0.01 - 0.08mg/mL (r = 0.9999), 最低检测浓度为 0.3μg/mL, 平均回收率为 99.94%; 硝酸益康唑的线性范围为 0.1 - 0.8mg/mL (r = 0.9999), 最低检测浓度为 0.001μg/mL, 平均回收率为 99.78%。结论 本方法专属性好, 回收率高, 方法简便, 结果准确可靠, 可用于测定醋酸曲安奈德和硝酸益康唑含量测定。

关键词:反相高效液相色谱法; 醋酸曲安奈德; 硝酸益康唑; 含量测定

中图分类号: R283.644

文献标识码: A

文章编号: 1008-987X(2010)06-0028-03

RP - HPLC for Determination of Two Ingredients in Triamcinolone Acetonide and Econazole Cream

HE Yinglong¹, LUO Juan², XIE Yun²

(1. Grade 2008 postgraduate student majoring in pharmaceutical analysis, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei;

2. Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei)

Abstract: Objective To determine triamcinolone econazole cream in the two sub - levels using high performance liquid chromatography. **Methods** The column was Sepax Technologies C₈ column (250mm × 4.6mm, 5μm), to take hexane Sodium 0.94g, plus acetonitrile - isopropyl alcohol - water (140:140:720) adjusted with phosphoric acid pH3.0 as mobile phase A, to take hexane Sodium 0.94g, added methanol - water (900:100) adjusted with phosphoric acid pH3.0 as the mobile phase B; a flow rate of 1.0mL/min; detection wavelength 227nm; column temperature was 40℃. **Results** Triamcinolone annai of the linear range of 0.01mg/mL - 0.08mg/mL (r = 0.9999), the minimum detectable concentration 0.3μg/mL, the average recovery was 99.94%; the linear range of econazole nitrate was 0.1mg/mL - 0.8mg/mL (r = 0.9999), the minimum detectable concentration 0.001μg/mL, the average recovery was 99.78%. **Conclusion** The method is specific, high recovery rate for the determination of triamcinolone acetonide and moral determination of econazole nitrate method is simple, accurate and reliable.

Keywords: RP - HPLC; Triamcinolone Acetonide Acetate; Econazole Nitrate

曲安奈德益康唑乳膏是由醋酸曲安奈德和硝酸益康唑组成的复方外用制剂。醋酸曲安奈德属于肾上腺皮质激素类药物, 具有抗炎、抗过敏和止痒作用; 硝酸益康唑是一种广谱抗真菌药, 具有抗表皮真菌感染作用。本品既可以抑制真菌, 又可以减轻真菌感染后引起的炎症反应及过敏反应, 主要用于真菌引起的皮肤病^[1]。笔者采用反相高效液相色谱梯度洗脱法同时测定了曲安奈德益康唑乳膏中两组分的含量, 方法专属性好, 回收率高。

1 材料

1.1 仪器

美国戴安 P680 泵, HT - 230A 柱温箱, 美国戴安 UVD170U 紫外可见分光光度检测器, Chromeleon 工作站, Acculab 精密电子天平, KQ2200B 型超声波清洗器。

1.2 试剂

甲醇、乙腈、异丙醇(天津市科密欧化学试剂开发中心)、己烷磺酸钠(山东禹王实业有限公司)为色谱纯, 其他试剂均为分

作者简介: 何应龙(1985 -), 男, 湖北中医药大学药学院 2008 级硕士研究生。

析纯,水为重蒸水。醋酸曲安奈德对照品(中国药品生物制品检定所批号:100125-200908);硝酸益康唑对照品(批号:0214-9802 中国药品生物制品检定所)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Sepax Technologies C₈ 色谱柱(250mm × 4.6mm, 5μm);流动相:以己烷磺酸钠0.94g,加乙腈-异丙醇-水(140:140:720)并磷酸调节pH为3.0作为流动相A,以己烷磺酸钠0.94g,加甲醇-水(900:100)并磷酸调节pH为3.0作为流动相B 梯度洗脱;流速:1.0mL/min;柱温:40℃;检测波长:227nm;进样量为20μL。梯度洗脱见表1。

表1 流动相梯度变化条件

时间(min)	流动相 A	流动相 B	流速(mL/min)
0	70	30	1.0
55	20	80	1.0
60	70	30	1.0

2.2 溶液的配制

供试品溶液的配制:取本品1.25g,精密称定,加四氢呋喃2mL,置水浴40℃加热溶解,置25mL容量瓶中,加甲醇稀释定容至刻度,摇匀,置冰水浴中2h,过滤,即得。

混合对照品溶液的配制:取醋酸曲安奈德对照品约17.6mg,精密称定,置25mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为醋酸曲安奈德贮备液。另取硝酸益康唑对照品约12.5mg,精密称定,置25mL容量瓶中,精密加醋酸曲安奈德贮备液2mL,加四氢呋喃2mL,用甲醇稀释至刻度,即得。

醋酸曲安奈德对照品溶液的配制:取醋酸曲安奈德贮备液2mL,精密量取,置25mL容量瓶中,加四氢呋喃2mL,用甲醇稀释至刻度,即得。

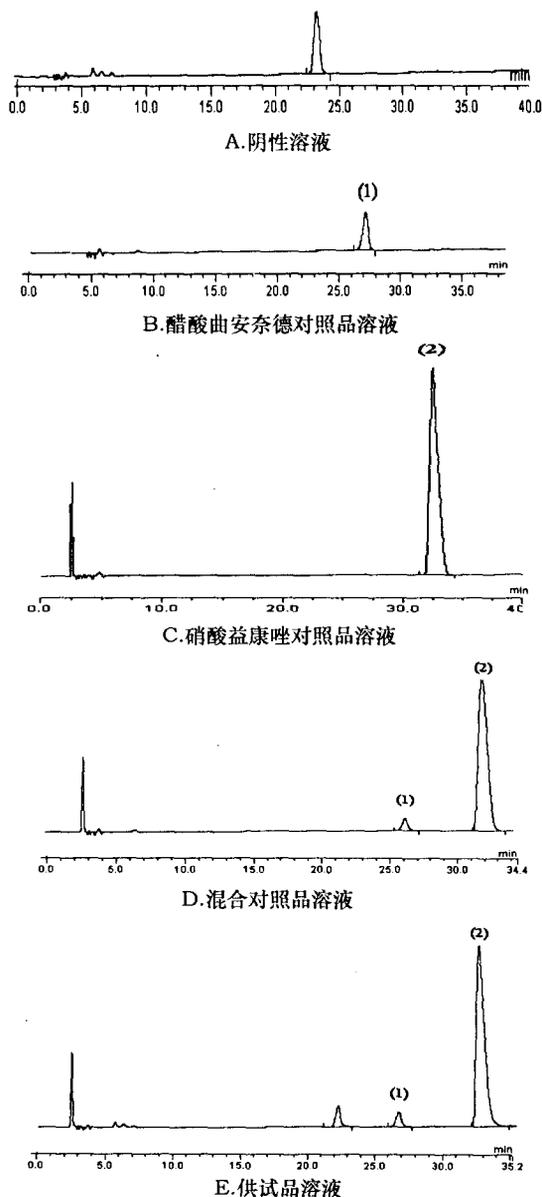
硝酸益康唑对照品溶液的配制:取硝酸益康唑对照品约12.5mg,精密称定,置25mL容量瓶中,加四氢呋喃2mL用甲醇稀释至刻度,即得。

阴性对照溶液的配制:按处方量称取除醋酸曲安奈德和硝酸益康唑以外的其他成分,制成空白基质,取空白基质1.25g,精密称定,加四氢呋喃2mL,置水浴40℃加热溶解,置25mL容量瓶中,加甲醇稀释定容至刻度,摇匀,置冰水浴中2h,过滤,即得。

2.3 专属性试验

取上述阴性溶液、醋酸曲安奈德对照品溶液、硝酸益康唑对照品溶液、混合对照品溶液及样品溶液各20μL,注入色谱仪,按上述色谱条件进行测定,结果见图1。

实验结果表明,色谱图E显示供试品溶液中出现的2个主峰与对照品B、C、D中主峰保留时间一致,且样品溶液中2个主峰分离度良好($R > 1.5$),色谱图A显示阴性溶液在醋酸曲安奈德和硝酸益康唑的主峰位置没有出现杂质峰,说明其他成分和辅料不干扰主成分的含量测定。

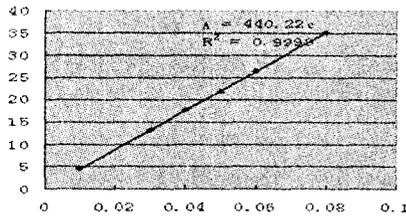


(1)为醋酸曲安奈德峰 (2)为硝酸益康唑峰
图1 各样品色谱图

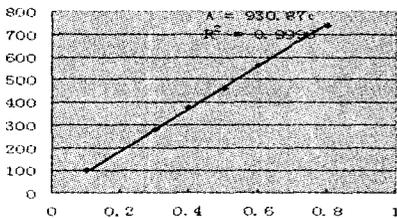
2.4 线性关系

精密称取醋酸曲安奈德对照品10mg、硝酸益康唑100mg,置100mL容量瓶中,加甲醇定容并稀释至刻度,摇匀,作为线性贮备液。分别量取线性贮备液1、3、4、5、6、8mL各置于10mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件分别精密量取20μL注入色谱仪,记录色谱图,以峰面积A为纵坐标,浓度C为横坐标,做线性回归得方程分别为:醋酸曲安奈德 $A = 438.19C + 0.1138, r = 0.9999$; 硝酸益康唑 $A = 917.51C + 7.472, r = 0.9999$ 。

结果表明醋酸曲安奈德在0.01-0.08mg/mL浓度范围内线性关系良好;硝酸益康唑在0.1-0.8mg/mL浓度范围内线性关系良好。见图2。



A. 醋酸曲安奈德的标准曲线



B. 硝酸益康唑标准曲线

图2 线性关系曲线

2.5 检测限与定量限

分别称取醋酸曲安奈德对照品与硝酸益康唑对照品适量,加甲醇溶解后,用甲醇逐步稀释后进样 20μL,得到醋酸曲安奈德的检测限为 0.3μg/mL(S/N=3),定量限为 0.95μg/mL(S/N=10);硝酸益康唑的检测限为 0.001μg/mL(S/N=3),定量限为 0.005μg/mL(S/N=10)。

2.6 精密度试验

取线性贮备液 5mL,置 10mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,连续进样 5 次,每次 20μL 得到醋酸曲安奈德峰面积的 RSD=0.44%,硝酸益康唑峰面积的 RSD=1.24%。表明精密度良好。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8h,按照上述色谱条进行测定,结果显示醋酸曲安奈德峰面积 RSD=0.87%,硝酸益康唑峰面积 RSD=1.36%。表明该样品溶液在 8h 内稳定。

2.8 回收率试验

取处方量空白基质 9 份,每 3 份按标示量的 80%、100%、120% 的比例加入醋酸曲安奈德和硝酸益康唑对照品,按“供试品溶液的配制”项下操作,在上述色谱条件进行测定,结果见表 2。

2.9 样品的含量测定

分别取混合对照品溶液与供试品溶液,各进样 20μL,按上述色谱条件,以外标法计算两组分的含量。3 批样品中醋酸曲安奈德标示量的百分含量分别为 100.91%、100.89%、101.98%,硝酸益康唑标示量百分含量分别为 100.65%、100.44%、98.81%。结果见表 3。

3 讨论

3.1 流动相的研究

本实验参考有关文献[2],进行色谱条件的选择,通过调节流动相的梯度变化率及 pH 值,结果发现,在按照表 1 中梯度变化率并调节流动相 pH 为 3.0 时,两主峰的分度及峰形均较好。

3.2 pH 值的选择

由于硝酸益康唑为弱碱性物质,本实验采用离子对技术,有关文献[3]说明不同 pH 值对硝酸益康唑的峰形影响较大,因此本实验采用不同 pH(3.0、3.5、4.0、5.0)进行测定,结果发现当流动相 pH 为 3.0 时,硝酸益康唑峰形较好。

本品为乳膏剂,乳膏中基质对色谱柱污染较为严重会影响色谱柱的寿命,因此在预处理过程中,本实验采取将样品溶液置冰水浴中 2h,趁冷过滤,使基质沉淀更完全,减少了对色谱柱的污染。

表 2 醋酸曲安奈德和硝酸益康唑回收率(n=9)

组别	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
醋酸曲安奈德	1.085	1.075	99.08	99.94	1.2
	1.155	1.175	101.73		
	1.140	1.150	100.88		
	1.324	1.300	98.19		
	1.315	1.325	100.76		
	1.373	1.350	98.32		
硝酸益康唑	1.571	1.575	100.25	99.78	0.3
	1.642	1.650	100.49		
	1.654	1.650	99.76		
	10.315	10.300	99.85		
	9.711	9.650	99.37		
	10.695	10.725	100.28		
	11.304	11.250	99.52		
	12.311	12.250	99.50		
	12.530	12.511	99.84		
14.288	14.250	99.73			
14.865	14.875	100.06			
15.542	15.525	99.89			

表 3 样品的含量测定

样品批号	硝酸益康唑(标示量%)	醋酸曲安奈德(标示量%)
091213	100.65	100.91
091218	100.44	100.89
091225	98.81	101.98

参考文献:

[1] 陆宏图,徐玉凤,薛春余,扶严宁[J].中国新药杂志,2003,12(3):322.
 [2] 国家食品药品监督管理局.国家药品标准[S].曲安奈德益康唑乳膏(II),WS1-(X-320)-2004Z.
 [3] 刘百义.派瑞松乳膏中曲安奈德和硝酸益康唑的含量测定[J].中国药业,2009,18(7):26-27.

(收稿日期:2010-05-10 编辑:郑晓屏)