

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.03.013

◇ 药物分析 ◇

反相高效液相色谱法测定曲咪新乳膏中 醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的含量

刘晓玲, 梁晓东, 崔杨, 王婷婷, 刘琳, 丁银春, 周化, 范石虎

作者单位: 亿帆医药研究院(北京)有限公司药学部, 安徽 合肥 232001

通信作者: 梁晓东, 男, 研究员, 研究方向为新药研发, E-mail: dick.liang@novotekchina.com

摘要:目的 探讨测定曲咪新乳膏中醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑含量的方法。方法 采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent SB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5.0 μm); 以 A 甲醇:0.05% 乙酸铵 (85:15), B 甲醇:0.05% 乙酸铵 (75:25) 为流动相, 采用梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 240 nm, 进样量: 20 μL。结果 醋酸曲安奈德在 0.01 ~ 0.06 mg/mL 范围内线性关系良好 ($r = 1.000\ 0, n = 5$), 平均回收率为 100.52%, RSD = 0.62%; 硝酸咪康唑在 0.1 ~ 0.6 mg/mL 范围内线性关系良好 ($r = 0.999\ 6, n = 5$), 平均回收率为 99.93%, RSD = 0.86%。结论 此方法可同时测定曲咪新乳膏中两组分的含量, 方法简便, 准确, 快速。

关键词: 曲咪新乳膏; 醋酸曲安奈德; 硝酸咪康唑; 反相高效液相色谱

Determination of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate in triamcinolone acetonide and miconazole nitrate and neomycin sulfate cream by reversed-phase high performance liquid chromatography

LIU Xiaoling, LIANG Xiaodong, CUI Yang, WANG Tingting, LIU Lin, DING Yinchun, ZHOU Hua, FAN Shihu

Author Affiliation: Department of Pharmacy, Yifan Pharmaceutical Academy (Beijing) Co. Ltd, Hefei, Anhui 232001, China

Abstract: **Objective** To establish a RP-HPLC method to determinate the contents of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate in triamcinolone acetonide and miconazole nitrate and neomycin sulfate cream. **Methods** Using Agilent SB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5.0 μm) column; Mobile phase A was methyl alcohol and 0.05% ammonium acetate in (85:15), Mobile phase B was methyl alcohol and 0.05% ammonium acetate in (75:25), gradient elution; Velocity: 1.0 mL/min; The column temperature was 30 ℃. The UV detection wavelength was 240 nm and the inject volume was 20 μL. **Result** The linear hypotaxis of triamcinolone acetonide was good in the scope of 0.01-0.06 mg/mL ($r = 1.000\ 0, n = 5$). The average recycle ratio was 100.52% (RSD = 0.62%). The linear hypotaxis of Miconazole Nitrate was good in the scope of 0.1-0.6 mg/mL ($r = 0.999\ 6, n = 5$). The average recycle ratio was 99.93% (RSD = 0.86%). **Conclusion** This method can simultaneously determine the contents of the two components in triamcinolone acetonide and miconazole nitrate and neomycin sulfate cream. The method is simple, accurate and fast.

Key words: Triamcinolone acetonide and miconazole nitrate and neomycin sulfate cream; Triamcinolone acetonide acetate; Miconazole nitrate; RP-HPLC

曲咪新乳膏是由醋酸曲安奈德、硝酸咪康唑、硫酸新霉素组成的复方制剂, 每克乳膏含有醋酸曲安奈德 1 mg, 硝酸咪康唑 10 mg, 硫酸新霉素 3 000 U。适应症: 用于湿疹、接触性皮炎、脂溢性皮炎、神经性皮炎、体癣、股癣及手足癣等。曲咪新乳膏的已有国家标准^[1]中, 只制订了醋酸曲安奈德的含量测定。该方法采用氯仿提取, 四氮唑盐比色法^[2]使用紫外分光光度计测定^[3]。其中样品前处理过程繁琐, 温度、光照、空气均会对检测结果产生影响, 且未对硝酸咪康唑的含量^[4-5]进行测定。本文采用反

相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 同时测定两组分含量^[6-9], 试样前处理简单且样品稳定, 比已有标准更具优势。

1 试药与仪器

1.1 试剂与药品 醋酸曲安奈德对照品 (中国食品药品检定研究院, 生产批号 100125-201406); 硝酸咪康唑对照品 (中国食品药品检定研究院, 生产批号 100213-201406); 硫酸新霉素 (宿州亿帆药业有限公司提供, 生产批号 151109); 甲醇 (色谱纯, 美国 Tedia), 乙酸铵 (分析纯, 国药集团), 水为娃哈哈

纯净水;曲咪新乳膏(宿州亿帆药业有限公司)3批(生产批号:151101、151102、151103)。

1.2 仪器 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪,安捷伦 1260 高效液相色谱仪,Agilent SB-C₁₈ 色谱柱,METTLER TOLEDO MS105DU 电子天平。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent SB-C₁₈(150 mm × 4.6 mm,5.0 μm);流动相:A 甲醇:0.05% 乙酸铵(85:15),B 甲醇:0.05% 乙酸铵(75:25),按表 1 进行梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;检测波长:240 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

表 1 梯度表		
时间/min	A/%	B/%
0	0	100
1	0	100
2	100	0
10	100	0
11	0	100
18	0	100

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取醋酸曲安奈德对照品约 10 mg 置 100 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,作为贮备液。精密称取硝酸咪康唑对照品约 10 mg、移取 10 mL 醋酸曲安奈德对照品贮备液均置 25 mL 量瓶中,加入甲醇稀释定容至刻度,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取乳膏约 2.0 g,置烧杯中,加甲醇 30 mL,置 80 ℃ 水浴中 5 min,转移至 50 mL 量瓶中,放冷,用甲醇稀释至刻度,摇匀,在冰浴中冷却 2 h,迅速滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性溶液的制备 取除醋酸曲安奈德及硝酸咪康唑之外的原辅料按配比制成空白基质,照“2.2.2”项下方法制成阴性溶液。

2.3 色谱行为 分别精密量取“2.2.1”、“2.2.2”、“2.2.3”项下对照品、供试品、阴性对照溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。色谱图见图 1。

结果表明,加入硫酸新霉素的空白基质在此液相条件下对主药峰无干扰,主药峰拖尾因子均在 0.95~1.05 之间,理论塔板数醋酸曲安奈德为 2 960,硝酸咪康唑为 14 686。

2.4 线性关系与范围 配制含醋酸曲安奈德 0.1 mg/mL,硝酸咪康唑 1 mg/mL 的混合对照溶液。

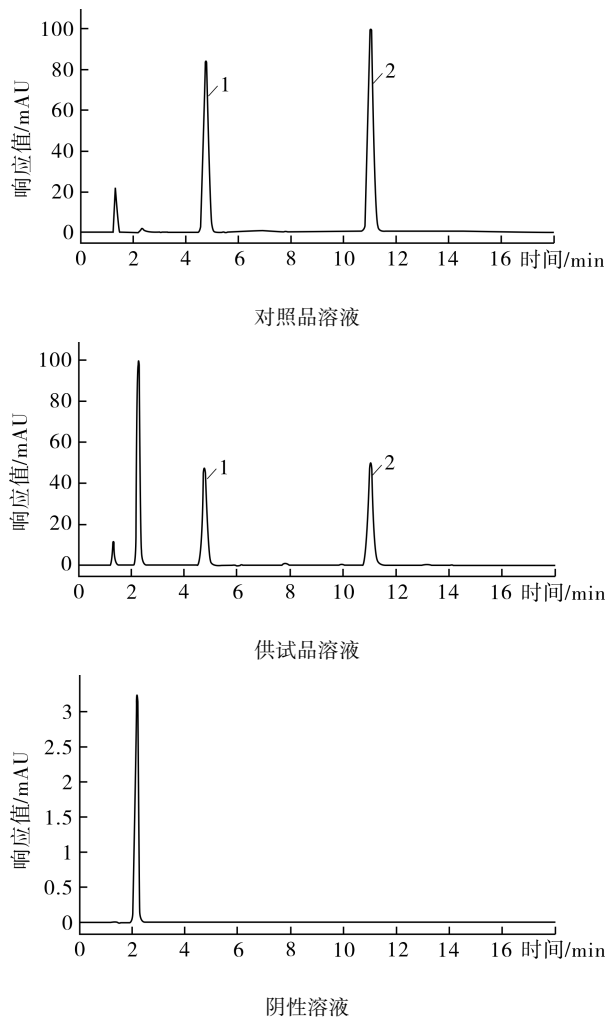


图 1 RP-HPLC 色谱图:1. 醋酸曲安奈德;2. 硝酸咪康唑

精密量取混合对照溶液 1、2、3、4、6 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度。分别吸取 20 μL 进样,按“2.1”项下色谱条件测定,以峰面积均值(Y)为纵坐标,进样浓度(X)为横坐标进行回归分析,得醋酸曲安奈德、硝酸咪康唑的回归方程分别为 $Y = 39\,686.578\,1X + 5.439\,7$ ($r = 1.000\,0$), $Y = 2\,539.434\,6X + 34.297\,4$ ($r = 0.999\,6$)。

结论:醋酸曲安奈德在 0.01~0.06 mg/mL 浓度范围内线性关系良好;硝酸咪康唑在 0.1~0.6 mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.5 稳定性实验 取“2.2.2”项下供试品溶液,室温放置,分别于 0、2、4、8、12 h 取样,量取 20 μL 注入液相色谱仪,记录醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的峰面积。

结果表明,醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑两组分峰面积的 RSD 分别为 0.34%、0.56%,说明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重复性实验 按照“2.2.2”项下方法配制 6 份样品溶液,连续进样 6 次,记录醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的峰面积。

结果表明,醋酸曲安奈德、硝酸咪康唑两组分峰面积的RSD分别为0.18%、0.26%,说明该方法重复性良好。

2.7 精密度实验 取线性考察项下的对照品溶液,连续进样6次,分别计算6次的峰面积RSD。

结果:醋酸曲安奈德RSD=0.16%,硝酸咪康唑RSD=0.21%,精密度良好。

2.8 定量限和检测限 取混合对照贮备液定量稀释,按“2.1”项下方法测定,以S/N=10计算,醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的定量限分别为0.28 ng、0.8 ng,按S/N=3计算,醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的定量限分别为0.084 ng、0.2 ng。

2.9 回收率实验 配制含醋酸曲安奈德0.408 mg/mL,硝酸咪康唑4.032 mg/mL的混合对照贮备液。

称取空白基质各2.0 g置各烧杯中,再精密量取混合对照储备液4、5、6 mL加入烧杯,照“2.2”项下方法配制含醋酸曲安奈德、硝酸咪康唑为标示量注80%、100%、120%的样品溶液,每个浓度各3份,结果见表2。

表2 回收率实验结果

组分	1 g 基质中 加入量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
醋酸曲安奈德	0.816 0	0.818 4	100.29	100.52	0.62
	0.816 0	0.818 9	100.36		
	0.816 0	0.811 7	99.47		
	1.020 0	1.021 5	100.15		
	1.020 0	1.032 7	101.25		
	1.020 0	1.027 1	100.70		
	1.224 0	1.224 1	100.01		
	1.224 0	1.239 0	101.23		
	1.224 0	1.238 7	101.20		
	8.064 0	8.114 9	100.63		
硝酸咪康唑	8.064 0	8.139 7	100.94	99.93	0.86
	8.064 0	8.154 3	101.12		
	10.080 0	10.065 4	99.85		
	10.080 0	9.988 6	99.09		
	10.080 0	10.119 6	100.39		
	12.096 0	11.997 3	99.18		
	12.096 0	11.962 4	98.90		
	12.096 0	12.010 8	99.30		

实验结果:醋酸曲安奈德平均回收率100.52%,RSD=0.62%,硝酸咪康唑平均回收率99.93%,RSD=0.86%。

曲咪新乳膏的标示量为每克乳膏含有醋酸曲安奈德1 mg,硝酸咪康唑10 mg。

2.10 含量测定 取三批次样品,按“2.2.2”项下方法处理样品,进样,记录色谱图,按照外标法计算样品中醋酸曲安奈德和硝酸咪康唑的含量,结果见表3。

表3 三批含量测定结果

批号	醋酸曲安奈德含量/%	硝酸咪康唑含量/%
151101	99.97	99.36
151102	100.12	99.08
151103	100.08	99.53

3 结论

由于醋酸曲安奈德与硝酸咪康唑均可溶于甲醇,醋酸曲安奈德在0.01~0.06 mg/mL范围内线性关系良好,硝酸咪康唑在0.1~0.6 mg/mL范围内线性关系良好,所以醋酸曲安奈德与硝酸咪康唑检查项中的供试品可以共用。

由于曲咪新乳膏中的基质在甲醇中溶解,甲醇提取物中不可避免的残留有部分基质而影响被测成分分析,还可能会污染色谱柱,故将样品处理过程中置于冰浴中2 h,既可除去基质对样品的影响,还可避免污染色谱柱,试验表明冰浴2 h后迅速使用微孔滤膜滤过,样品中的乳膏基质大部分可以除去,能够满足分析需要。

醋酸曲安奈德在药典^[10]中有使用甲醇:水(60:40)作为流动相进行含量测定的,但该方法保留时间较长且不能同时对两组分进行含量测定,本文中的方法增加了硝酸咪康唑的含量分析,使得曲咪新乳膏的测定标准进一步完善,可以更为准确灵敏地控制乳膏质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会.国家药品标准-化学药品地方标准上升国家标准第2册[S].2002:67-68.

[2] 刘文英.药物分析[M].5版.北京:人民卫生出版社,2003:258.

[3] 刘光斌,刘效栓,姜芳宁,等.高效液相色谱法测定湿疹乳膏中氯霉素和醋酸曲安奈德含量[J].中国药业,2010,19(23):34.

[4] 吴月萍.高效液相法测定硝酸咪康唑乳膏含量[J].海峡药学,2013,25(10):81-83.

[5] 杨瑾,莫国栋,曾维国,等.高效液相色谱法测定复方咪康唑洗剂中硝酸咪康唑含量[J].中国药业,2016,25(7):46-48.

[6] 冯春景,刘阪阳,马建丽,等.HPLC法同时测定复方醋酸曲安奈德搽剂中盐酸普鲁卡因和醋酸曲安奈德的含量[J].解放军药学学报,2015,31(5):417-419.

[7] 黄兴汉,费路华,陈春游.HPLC法测定复方醋酸曲安奈德乳膏的含量[J].中国药师,2011,14(1):90.

[8] 李蔚,马嘉,吴静,等.HPLC法测定糠酸莫米松乳膏含量[J].安徽医药,2014,18(10):1854-1856.

[9] 李杰,欧余航,陈强,等.复方九节茶乳膏的质量标准研究[J].安徽医药,2015,19(10):1869-1872.

[10] 国家药典委员会.中国药典(二部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:1533.

(收稿日期:2017-08-08,修回日期:2017-10-12)