

标法计算含量。结果 3 批样品标示百分含量分别为 98.85%、98.28%、99.92%，RSD 分别为 1.05%、1.28%、0.66% ($n=3$)。

2 讨论

取 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 盐酸利托君对照液,在 200 ~ 400 nm 测定紫外吸收光谱,结果在 274.2、222.4 nm 有最大吸收。参照《美国药典》中盐酸利托君有关物质检查所选择的检测波长,确定 214 nm 为测定波长。曾试验了 0.86% 磷酸二氢铵和 0.16% 庚烷磺酸钠 - 甲醇 (7:3, pH3)^[3]、甲醇 - 水 - H_3PO_4 (20:80:0.1) 以及乙腈 - 水 - H_3PO_4 (85:15:0.1, pH2.7) 等不同流动相体系下盐酸利托君注射液中

各组分的分离情况,结果以后者为佳。文中方法,样品处理简单、灵敏度较高、精密度、准确度和线性关系均符合要求,能有效分离有关物质苏式异构体,适用于该制剂的质量控制。

参考文献:

- [1] 陈焱,王彦林.利托君防治早产的临床疗效[J].中国临床药理学杂志,2003,12(5):270-272.
- [2] 孙倩,丁静,杨中云.新型抗早产药物—注射用盐酸利托君[J].齐鲁药事,2006,25(1):60-61.
- [3] USP 26, P1230.
- [4] 黄蔚,魏雪芳.紫外分光光度法测定盐酸利托君(盐酸立特林)片含量[J].药物分析杂志,1997,17(2):127.

收稿日期:2006-03

HPLC测定克霉唑阴道片的主药及有关物质

余进¹,黄毅岚^{1,2},张丹^{1*},李鑫楠¹,李婧¹

(1.四川大学华西药学院,四川成都610041;2.泸州医学院附院药剂科,四川泸州646000)

摘要:目的 建立测定克霉唑阴道片含量及其有关物质的方法。方法 采用 HPLC法,Luna C₁₈色谱柱,甲醇-0.0125 mol·L⁻¹磷酸氢二钠(78:22,磷酸调 pH5.5)为流动相,检测波长 220 nm。结果 克霉唑 $2.5 \sim 40.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与峰面积的线性关系良好($r=0.9999$),平均回收率为 99.5%~100.2%,RSD=0.1% ($n=6$)。有关物质咪唑为 0.032%~0.037%,单一最大杂质为 0.16%,有关物质总量为 0.36%~0.37%。结论 所建方法准确、简便、快速,适用于克霉唑阴道片的质量控制。

关键词:克霉唑阴道片;HPLC法;有关物质

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1006-0103(2007)04-0443-03

Determination of the contents and related substances in Clotrimazole vaginal tablets by HPLC

YU Jin¹, HUANG Yi-lan^{1,2}, ZHANG Dan^{1*}, LI Xin-nan¹, LI Jing¹

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041; 2. Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

Abstract:OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of the contents and related substances in Clotrimazole vaginal tablets. **METHODS** Luna C₁₈ column was used (150 mm ×4.6 mm, 5 μm) with UV detection at 220 nm, and the mobile phase consisted of methane-0.0125 mol·L⁻¹ disodium hydrogen phosphate (78:22, adjusted to pH5.5 with phosphoric acid). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** The calibration curve was linear ($r=0.9999$) within the range of 2.5-40.0 μg·mL⁻¹ for Clotrimazole. The average recovery was from 99.51% to 100.2% for three different levels of the amount of Clotrimazole vaginal tablets, RSD was 0.10%. The imidazole in related substances was 0.032%-0.037%, the largest impurity was all 0.16% and the related substances were 0.36%-0.37%. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, accurate and effective for testing related substances in Clotrimazole vaginal tablets and for its content determination.

Key words: Clotrimazole vaginal tablets; HPLC; Related substances

CLC number:R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2007)04-0443-03

克霉唑(Clotrimazole)为咪唑类广谱抗真菌药,对多种真菌尤其是白色念珠菌具有较好的抗菌作

用^[1,2]。克霉唑阴道片的质量控制方法国内未见报道。现采用 HPLC测定了克霉唑阴道片的主药和有

作者简介:余进,男,正攻读药物分析专业的硕士学位。

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: zdan321@126.com

关物质,方法准确、简便、快速。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10A 型高效色谱仪(日本岛津); ChromTek 色谱工作站(美国 Alltech 公司); 色谱柱为 Luna C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)。克霉唑对照品(批号: 100037-200306)、咪唑对照品(批号: 10045-9903)(中国药品生物制品检定所); 克霉唑阴道片(四川 KR 制药有限公司, 每片 0.5 g, 批号: 050301, 050302, 050303); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水; 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件与系统适用性试验 用 C₁₈ 柱, 甲醇-0.0125 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠 (78:22, 磷酸调 pH 5.5) 为流动相; 检测波长 220 nm。理论板数按克霉唑峰计应不低于 2.5 × 10³, 克霉唑峰与相邻杂质峰的分度应符合要求。

1.2.2 测定方法 取 10 片样品, 精密称定, 研细, 精密称取适量(约相当于 20 mg 克霉唑), 置 100 ml 量瓶中, 加流动相溶解定容, 过滤; 精密量取 5 ml 续滤液, 置 50 ml 量瓶中, 加流动相定容, 作为供试品溶液; 另取克霉唑对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解成 20 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 同法制备缺克霉唑的空白辅料溶液。精密量取上述溶液各 20 μl, 分别进样, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算供试品中的克霉唑。

1.2.3 专属性考察 分别取“1.2.2 项下的供试品、对照品及空白辅料的溶液各 20 μl 进样, 记录色谱图。结果空白辅料在克霉唑峰处无干扰, 克霉唑峰与相邻杂质峰的分度符合要求。

1.2.4 线性关系 取克霉唑对照品适量, 精密称定, 用流动相制成 2.5、5.0、10.0、20.0、30.0、40.0 μg·mL⁻¹ 的溶液, 按“1.3.1 项下方法测定, 记录色谱图。以峰面积对浓度进行线性回归, 回归方程为: $Y = 1.413 \times 10^4 X + 4.188 \times 10^4$ ($r = 0.9999$), 克霉唑 2.5 ~ 40.0 μg·mL⁻¹ 与峰面积的线性关系良好。

1.2.5 精密度与重复性试验 精密称取克霉唑对照品适量, 以流动相配制高、中、低浓度 (16.4、19.8、24.8 μg·mL⁻¹) 的溶液, 分别精密吸取 20 μl 进样, 重复 5 次。各浓度峰面积的 RSD 分别为 0.66%、0.26%、0.57%。取同一批样品, 按“1.3.1 项下平行制备 6 份, 测得标示量的百分含量为 100.3%, RSD = 0.10% ($n = 6$)。

1.2.6 回收试验 在空白辅料中, 用流动相稀释成低、中、高浓度的对照品溶液, 按“1.3.1 项下试验, 回

收率分别为 99.97%、100.0%、99.72%, RSD 分别为 0.40%、0.38%、0.29% ($n = 3$)。

1.2.7 稳定性考察 按“1.3.1 项制备供试品溶液, 于室温下 1、2、3、4、6、8 h 分别进样 20 μl, 结果峰面积的 RSD = 0.30%, 说明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

1.2.8 含量的测定 取 3 批样品及克霉唑对照品适量, 照“1.3.1 项方法测定。按外标法计算各批样品中克霉唑的标示百分含量。3 批样品的含量为 100.1% ~ 100.2%。

1.3 有关物质的检查

1.3.1 测定方法 精密称取样品细粉适量, 加流动相稀释成 0.5 mg·mL⁻¹ 的溶液, 摇匀, 过滤, 取续滤液作为供试品溶液; 精密量取适量, 加流动相制成 5 μg·mL⁻¹ 的对照溶液; 另精密称取咪唑对照品适量, 加流动相制成 2.5 μg·mL⁻¹ 的咪唑对照品溶液; 同法制备缺克霉唑的空白辅料溶液。取对照溶液 20 μl, 进样, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高为满量程的 10% ~ 15%; 再精密量取供试品溶液、咪唑对照品溶液各 20 μl, 分别进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍; 供试品溶液的色谱图中如有杂质峰, 按外标法计算咪唑含量, 按不加校正因子的主成分自身对照法计算其他单一最大杂质及总杂质含量。

1.3.2 专属性考察 精密量取空白辅料溶液、供试品溶液及对照溶液各 20 μl, 进样, 记录色谱图(图 1) 空白辅料在主峰保留时间约 1.6 min 处有吸收峰, 在有关物质检查中应予以扣除。

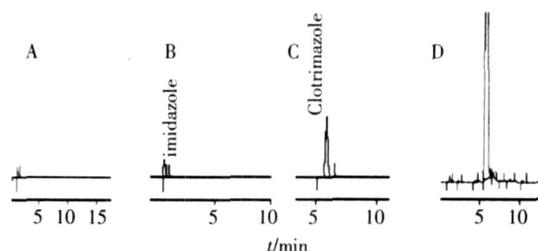


图 1 空白辅料(A)、咪唑对照品(B)、对照品(C)、供试品(D)溶液的色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of blank solution (A), imidazole control solution (B), control solution (C) and sample solution (D)

取样品细粉加流动相制成 1.0 mg·mL⁻¹ 的样品溶液; 取 1 ml 此液, 加 1 ml 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸, 室温放置 0.5 h 后, 用 0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠中和至中性, 作为酸解样品溶液; 取 1 ml 样品溶液, 加 1 ml 0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠, 室温放置 0.5 h 后, 用 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸中和至中性, 作为碱解样品溶液; 取 1 ml 样品溶液, 加 1 ml 1.0% 过氧化氢溶液, 室温放置

0.5 h,作为氧化降解样品;取样品于 120 °C 加热 6 h,作为热解样品;取样品于强光(照射度为 4500 ±500 LX)下照射 5 d,作为光解样品;取样品,在湿度为 92.5%的环境下放置 10 d,作为高湿度降解样品。

按“1.3.1 项制备供试品溶液并测定。该法能有效检测出各破坏性试验产生的降解物,且降解产物峰均能与主成分峰达到基线分离,专属性较好。

1.3.3 咪唑的线性范围及检测限 取咪唑对照品适量,精密称定,用流动相制成 1.25、2.50、3.75、5.00、7.50、10.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,按“1.3.1 项方法测定,记录色谱图。以峰面积对咪唑浓度进行线性回归,回归方程为: $Y = 1.442 \times 10^4 + 7.550 \times 10^2$ ($r = 0.9994$),结果表明,咪唑在 1.25 ~ 10.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时与峰面积的线性关系良好。检测限为 0.1 ng ($S/N = 3$)。

1.3.4 精密度考察 按“1.3.1 项方法平行制备对照溶液及咪唑对照品溶液各 5 份,分别进样 20 μL ,以对照溶液主峰面积和咪唑峰面积进行进样精密度考察,结果对照溶液主峰面积的 $RSD = 0.84\%$,咪唑峰面积的 $RSD = 0.61\%$ 。

1.3.5 重复性试验 精密称取样品适量,按“1.3.1 项方法平行制备供试品及对照品溶液各 6 份,分别进样 20 μL ,以杂质含量进行方法的精密度考察,结果咪唑含量的 $RSD = 2.8\%$,单一最大杂质含量的 $RSD = 3.4\%$,总杂质含量的 $RSD = 1.6\%$ 。

1.3.6 有关物质测定 按“1.3.1 项方法,对 3 批样品进行有关物质的检查(表 1)。

表 1 克霉唑阴道片有关物质的测定结果

Batch No.	Imidazole/%	Largest impurity/%	Related substances/%
050301	0.036	0.16	0.37
050302	0.037	0.16	0.37
050303	0.032	0.16	0.36

2 讨论

咪唑为克霉唑合成的原料及水解产物,在制剂影响因素试验、稳定性考察及质量研究中,应将其作为特殊杂质进行检查。但咪唑易与溶剂峰重叠而影响其峰面积的准确测量,因此,应严格采用随行流动相配制供试品溶液,以消除溶剂峰的干扰。在流动相中加入一定浓度的磷酸盐有助于改善柱效和峰对称性。由于流动相中甲醇比例较高,在配制流动相及测定中应注意避免磷酸盐析出而引起色谱柱及仪器管路阻塞。试验对有关物质检查的条件进行了选择。考察了不同流动相、不同检测波长、不同进样浓度及色谱图记录时间等条件下杂质的检查情况,以避免一些含量低、吸收弱、极性较强(或较弱)的杂质漏检。

参考文献:

- [1] 严珍. 凯尼丁阴道片对霉菌性阴道炎病原菌的抑制作用的研究[J]. 海峡药学杂志, 2005, 17(6): 91 - 92.
- [2] 王琼芬,夏瑛瑛. HPLC测定复方硫酸新霉素口腔溃疡药膜中克霉唑的含量[J]. 华西药理学杂志, 2006, 21(3): 290 - 291.

收稿日期: 2006 - 04

《中国医药导报》杂志 2008 年征稿征订启事

《中国医药导报》(原医药产来资讯)杂志是卫生部主管,中国医学科学院主办的国家级综合性医药卫生期刊,系中国核心期刊(遴选)数据库、中国期刊全文数据库收录期刊,卫生部和国家食品药品监督管理局核准的允许发布处方药的医学、药学专业刊物。

本刊为旬刊,每月 5 日、15 日、25 日各出版 1 期,为国际标准 16 开本,每期 160 页,国内外公开发行。国内刊号: CN11 - 5539/R,国际刊号 ISSN1673 - 7210,邮发代号: 80 - 372。每册定价 15 元。订阅全年 36 期,优惠价 360 元。

《中国医药导报》杂志以“前沿性、权威性、科学性、指导性、实用性和服务性”为办刊方针,以“解读医药政策法规、分析医药发展趋势、传播经营管理理念、展示医药科研成果、报道医药临床进展、促进医药产业发展”为宗旨,是广大医药科研机构、大中专院校、医药行政管理部门等开阔视野、了解市场、交流经验、探讨问题和提高学术水平的良师益友,是广大医药工作者发表医药学术论文的园地。

杂志社地址:北京市朝阳区农光南里 1 号龙辉大厦 10 层 1002 室。邮编: 100021。订刊电话: (010) 67300871 / 72/73 转 8001。投稿热线: (010) 67300871 转 8033。E - mail: yyzx68@163.com