

固相萃取－高效液相色谱法测定曲咪新乳膏中硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的含量

黄静, 张毅

(河北省药品检验所, 石家庄 050011)

摘要 目的: 采用 C_{18} 固相萃取柱分离除去曲咪新乳膏中的基质干扰, 高效液相色谱法同时测定硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的含量。方法: 色谱柱为 Waters Xterra C_{18} (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相为乙腈－0.6% 醋酸铵溶液 (65: 35); 检测波长为 235 nm; 流速为 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温为 35 $^{\circ}$ C。结果: 硝酸咪康唑进样量在 0.0998~2.494 μ g 醋酸曲安奈德进样量在 0.0102~0.256 μ g 范围内, 线性关系良好。平均回收率硝酸咪康唑为 99.5%, 醋酸曲安奈德为 99.2%。结论: 此方法灵敏快速、结果准确、重现性好, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 固相萃取; 硝酸咪康唑; 醋酸曲安奈德

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)02-0305-03

SPE-HPLC determination of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate in triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate neomycin sulfate cream

HUANG Jing ZHANG Yi

(Institute for Drug Control of Hebei Province, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract Objective To establish a SPE-HPLC determination of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate in triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate neomycin sulfate cream. **Method** The sample was purified with C_{18} solid phase column and its content was determined with HPLC method. The Waters Xterra C_{18} column (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm) was adopted and mobile phase consisted of acetonitrile-0.5% acetate solution (65: 35). The UV detector wavelength was at 235 nm. The flow rate was 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹. The column temperature 35 $^{\circ}$ C. **Results** The linear range of miconazole nitrate was 0.0998-2.494 μ g and the average recovery was 99.5%; and triamcinolone acetonide acetate was 0.0102-0.256 μ g and the average recovery was 99.2%. **Conclusion** The method is simple, quick, sensitive, accurate, reproducible and be adopted to control the quality of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate neomycin sulfate cream.

Key words solid-phase extraction; miconazole nitrate; triamcinolone acetonide acetate

曲咪新乳膏为硝酸咪康唑、醋酸曲安奈德及硫酸新霉素加一定基质制成的乳膏, 主要用于抗真菌。其质量标准收载于国家药品标准化学药品地标升国标第二册^[1], 采用的是紫外分光光度法, 且只测定了醋酸曲安奈德的含量。也有文献^[2]报道用 HPLC 法同时测定硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的含量。但是, 样品的预处理采用的是冰浴冷却。本文经过实验发现, 某些厂家产品由于基质不同, 多次冷却过滤后仍不能澄清。如果不澄清的样品溶液直接进入液

相色谱仪, 残存的基质会污染色谱柱和液相仪。因此, 需要研究一种曲咪新乳膏样品预处理的更加有效的方法。

固相萃取法是复杂样品前处理领域中广泛应用的一种实验技术, 它能快速简便有效地除去有关杂质组分并浓缩待测组分。但是, 该方法尚未见用于软膏剂基质去除的报道。本文将固相萃取技术应用用于曲咪新乳膏样品前处理制备中, 制备出的样品溶液澄清, 基质可以完全除去, 用 HPLC 同时测定硝酸

咪康唑和醋酸曲安奈德的含量,操作简单,快速,结果准确。

1 仪器与试剂

岛津 LC-2010CHT 全自动高效液相色谱仪, CLASS-VP 色谱工作站, C₁₈ 固相萃取柱 (天津富集科技有限公司, 250 mg 3 mL), 硝酸咪康唑对照品 (100213-200204 中国药品生物制品检定所提供), 醋酸曲安奈德对照品 (100125-200404 中国药品生物制品检定所提供), 曲咪新乳膏 (唐山集川药业利康制药, 批号为 20070512, 20070513, 20070514), 乙腈为色谱纯, 醋酸铵为分析纯, 水为超纯化水。

2 HPLC 色谱条件

色谱柱: Waters X terra C₁₈ (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相: 乙腈 - 0.6% 醋酸铵溶液 (65:35); 检测波长: 235 nm; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL。色谱图见图 1。

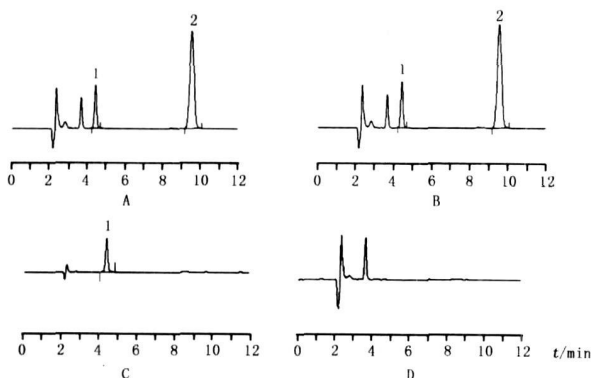


图 1 对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B)、醋酸曲安奈德定位 (C) 和空白辅料 (D)

Fig 1 HPLC chromatograms of chemical reference substances (A), sample (B), triamcinolone acetate (C) and blank sample (D)

1. 硝酸咪康唑 (miconazole nitrate) 2. 醋酸曲安奈德 (triamcinolone acetate)

3 溶液的制备

3.1 对照品储备液 精密称取硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德对照品各适量, 用甲醇配制成浓度分别为 0.25 mg · mL⁻¹, 0.025 mg · mL⁻¹ 的溶液, 作为储备液。

3.2 对照品溶液 精密量取上述储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀即得。

3.3 供试品溶液 取本品, 精密称取 (约相当于硝酸咪康唑 25 mg 醋酸曲安奈德 2.5 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 微温使溶解, 放置至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1.0 mL, 置经处理

后的 C₁₈ 固相萃取柱上, 用流动相洗脱, 用 5 mL 量瓶收集洗脱液至刻度, 摇匀即得。

3.4 空白对照溶液 按处方配制空白基质, 照“3.3”项下方法进行处理, 即得。精密量取空白对照溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 结果表明, 在该条件下, 辅料对硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的含量测定无干扰。色谱图见图 1-D。

4 方法与结果

4.1 固相萃取柱系统适用性试验 用 C₁₈ 为填充物的固相萃取柱, 以“3.3”项下相同的处理条件和洗脱条件试验。精密量取对照品储备液 1 mL, 置处理后的固相萃取柱上, 同“3.3”项下的洗脱方法进行洗脱, 用 5 mL 量瓶收集洗脱液至刻度, 摇匀。分别精密量取该洗脱液与对照品溶液各 20 μL, 依次注入液相色谱仪, 记录色谱图。硝酸咪康唑的回收率 (n=3) 为 98.9% (RSD=0.2%), 醋酸曲安奈德的回收率 (n=3) 为 99.1% (RSD=0.3%)。

4.2 线性关系 精密称取硝酸咪康唑对照品 124.7 mg 醋酸曲安奈德对照品 12.79 mg 置 500 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密量取此储备液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 流动相稀释至刻度, 摇匀, 制得系列对照品溶液。在上述色谱条件下, 进样 20 μL, 记录色谱图。以进样量 C (μg) 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 得硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的回归方程分别为:

$$A = 7.133 \times 10^5 C + 6.389 \times 10^2 \quad r = 0.99998$$

$$A = 1.853 \times 10^6 C - 2.804 \times 10^2 \quad r = 0.99996$$

结果表明硝酸咪康唑进样量在: 0.0998~2.494 μg 醋酸曲安奈德进样量在: 0.0102~0.256 μg 范围内, 线性关系良好。

4.3 精密度试验 精密量取对照品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 测定。结果硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的峰面积 RSD (n=4) 均为 0.2%, 表明本法精密度良好。

4.4 稳定性试验 精密量取同一批号供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 12 h 测定, 结果硝酸咪康唑峰面积 RSD 为 0.2%, 醋酸曲安奈德峰面积 RSD 为 0.4%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

4.5 重复性试验 取批号为 20070512 的样品, 分别制备供试品溶液 5 份, 分别进样, 记录色谱图, 结果硝酸咪康唑含量 RSD 为 0.2%, 醋酸曲安奈德含量 RSD 为 0.3%。

4.6 回收率试验 根据处方,称取空白基质 9份,按样品标示量的 80%, 100%, 120% 各 3份,分别精密加入硝酸咪康唑对照品和醋酸曲安奈德对照品,分置 100 mL量瓶中,加甲醇适量,微温使溶解,放置至室温,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 1.0 mL,置经处理后的 C_{18} 固相萃取柱上,用流动相洗脱,用 5 mL量瓶收集洗脱液至刻度,摇匀。照含量测定项下方法测定。结果硝酸咪康唑低、中、高 3种浓度的回收率 ($n=3$) 分别为 99.2% (RSD = 0.33%), 99.6% (RSD = 0.23%), 99.7% (RSD = 0.46%), 平均值 ($n=9$) 为 99.5%; 醋酸曲安奈德低、中、高 3种浓度的回收率 ($n=3$) 分别为 98.9% (RSD = 0.55%), 99.6% (RSD = 0.74%), 99.1% (RSD = 0.36%), 平均值 ($n=9$) 为 99.2%。本方法回收率良好。

4.7 含量测定 分别精密量取“3.2”对照品溶液和“3.3”供试品溶液各 20 μ L,注入液相色谱仪,测定,按外标法以峰面积计算。结果 3批样品中硝酸咪康唑、醋酸曲安奈德含量分别为 101.8%, 100.4%; 102.3%, 100.8%; 101.4%, 100.1%; RSD ($n=3$) 分别为 0.4%, 0.5%; 0.3%, 0.3%; 0.5%, 0.3%。

5 讨论

5.1 固相萃取柱填料与洗脱液的选择 固相萃取柱是利用固体吸附剂将样品中的目标化合物吸附,使目标化合物与基体干扰物分离,再用洗脱液洗脱达到分离和富集的目的。本实验选取和液相色谱柱同样填料的固相萃取柱 (C_{18}),采用流动相作洗脱

液,实验证明,曲咪新乳膏中的两个主要成分硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德回收率达到预期值。

5.2 固相萃取柱的预处理 固相萃取柱需先用适量甲醇活化,除去填料中可能的杂质,再用流动相适量冲洗,除去甲醇。

5.3 洗脱液体积的确定 选择流动相 5 mL洗脱可以有有效的将待测组分洗脱分离并将基质保留在固相萃取柱中,起到良好的分离效果。

5.4 波长的选择 取硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德对照品适量,分别加流动相溶解,用紫外分光光度计,分别在 200~300 nm的波长范围内扫描,硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德分别在 230 nm和 240 nm波长处有最大吸收。在 235 nm波长处测定,两成分的响应值均较大。

5.5 流动相的选择 参照英国药典^[3]同类品种的色谱条件,调整流动相的组分及比例,试验结果表明,该流动相乙腈-0.6%醋酸铵溶液(65:35)能将曲咪新乳膏中的两个主要成分硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德良好的分离。

参考文献

- 1 National Drugs Standard(国家药品标准). Vol 2(第2册). 2002. 67
- 2 SUN L(孙丽). HPLC determination of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate in triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate neomycin sulfate cream. (HPLC法同时测定曲咪新乳膏中硝酸咪康唑和醋酸曲安奈德的含量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(8): 946
- 3 BP. 2008. Vol II: 1464

(本文于 2008年 4月 17日收到)