RP-HPLC 法测定酮甲霜中酮康唑和甲硝唑的含量

王晓燕，高 丹
（解放军第二三〇医院，辽宁丹东 118000）

[摘要] 目的：建立反相高效液相法测定酮甲霜中酮康唑和甲硝唑含量的方法。方法：采用 Diamonsil-C_{18}(4.6 mm×250 mm，5 μm)色谱柱；流动相：甲醇-水(74:36)；检测波长：239 nm；流速：1.0 ml/min。结果：酮康唑在 0.06~2.10 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系(r=0.999 5)，平均回收率为 98.89%，RSD=1.40%；甲硝唑在 0.06~2.10 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系(r=0.999 1)，平均回收率为 98.75%，RSD=1.10%。结论：本方法简便、准确、重现性好，可用于酮甲霜中酮康唑和甲硝唑的质量控制。

[关键词] 反相高效液相法；酮甲霜；酮康唑；甲硝唑；含量测定
[中图分类号] R927.2 [文献标识码] B [文章编号] 1673-7210(2010)04(c)-079-02

Content determination of ketoconazole and metronidazole in Compound Ketoconazole Cream by RP-HPLC

WANG Xiaoyan[1], GAO Dan[2]
(The PLA 230th Hospital, Dandong 118000, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the content determination of ketoconazole and metronidazole in Compound Ketoconazole Cream by RP-HPLC. **Methods:** The Diamonsil C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phases consisted of acetonitrile and water (74:36), the flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was at 239 nm. **Results:** The linear ranges of ketoconazole was at 0.06-2.10 μg (r=0.999 5), the average recovery was 98.89% with a *RSD* of 1.40%; the linear ranges of metronidazole was at 0.06-2.10 μg (r=0.999 1), the average recovery was 98.75% with a *RSD* of 1.10%. **Conclusion:** The method is fast, reliable, accurate and can be used in the quality control of ketoconazole and metronidazole in Compound Ketoconazole Cream.

[Key words] RP-HPLC; Compound Ketoconazole Cream; Ketoconazole; Metronidazole; Content determination

酮甲霜是我院研制的含酮康唑和甲硝唑的皮肤外用制剂，酮康唑和甲硝唑具有抗真菌作用[1]，临床上用于治疗体癣、牛皮癣、湿疹以及神经性皮炎等[2]。酮康唑和甲硝唑的含量测定有电位滴定法、紫外-可见分光光度法[3]。本文建立了以 HPLC 法同时测定酮甲霜中酮康唑和甲硝唑两组分含量的方法[4-5]。现介绍如下：

1 仪器与试药

高效液相色谱仪(HITACHI，7110)，酮康唑原料(南京白敬宇制药有限公司生产，KE-071115)；甲硝唑原料(武汉武药制药有限公司生产，CO4-L0706226)；酮康唑对照品(中国药品生物制品检定所，批号：100294-200602)；甲硝唑对照品(中国药品生物制品检定所，批号：100191-200305)，酮甲霜(解放军第二三〇医院的医院制剂，含酮康唑和甲硝唑分别是1%)。其他试剂为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 酮甲霜的制备

按照处方组成(酮康唑 1 g、甲硝唑 1 g、氮酮 2 ml、乙二胺四乙酸二钠 0.05 g、乳膏基质加至 100 g)分别称取酮康唑、甲硝唑研磨过 6 号筛(80~100 目)，置乳钵中，加氮酮、乙二胺四乙酸二钠研磨均匀，按等量递加法加入基质中，充分研匀，分装，即得[6-7]。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取酮康唑对照品和甲硝唑对照品适量，加甲醇溶解，并制成含酮康唑 1.0 mg/ml 和甲硝唑 1.0 mg/ml 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取酮康唑适量，加无水乙醇于 80℃水浴加热溶解，冷却放置量瓶中，用乙醇加至刻度，冰浴 2 h，滤过，配制成含酮康唑 50 μg/ml 和甲硝唑 50 μg/ml 的供试品溶液。

2.4 阴性对照品的制备

按处方比例，取除酮康唑和甲硝唑的其他试药，按“2.1”项下方法制成缺酮康唑和甲硝唑的阴性样品，再按“2.3”项下方法制成阴性对照品溶液。

2.5 色谱条件

色谱柱：Diamonsil C_{18}(4.6 mm×250 mm，5 μm)，流动相：甲醇-水(74:36)，流速：1.0 ml/min，检测波长：239 nm，柱温：30℃，进样量：20 μl。

2.6 系统适用性试验

分别取酮康唑和甲硝唑对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液，按上述色谱条件进行试验，考察系统适用性。HPLC 色谱图见图 1。由图 1 可知，酮康唑和甲硝唑能够有效的分离，空白基质没有干扰。

[作者简介] 王晓燕，女，主管药师，大学本科；现就职于中国人民解放军第二三〇医院。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

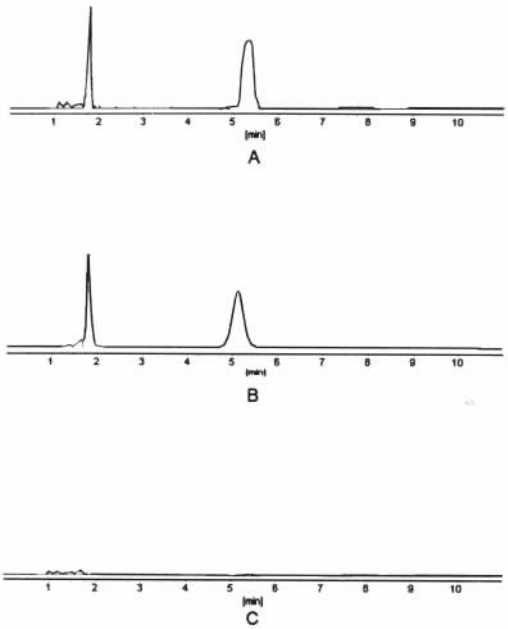

图 1　HPLC 色谱图

(A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.甲硝唑;2.酮康唑)

Fig.1　HPLC chromatography

(A.Reference substance; B.Sample; C.Negative control; 1.metronidazole; 2.ketoconazole)

2.7 线性关系考察

分别精密量取对照品贮备液 1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 ml,置于 50 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,分别精密量取 20 μl,分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定色谱峰面积,以进样浓度(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,计算回归方程,结果表明酮康唑进样量在 0.06~2.10 μg 范围内,呈良好的线性关系,回归方程为 Y=24 616X−135 469(r=0.999 5);甲硝唑进样量在 0.06~2.10 μg 范围内,呈良好的线性关系,回归方程为 Y=16 915X−113 242(r=0.999 1)。

2.8 精密度试验

精密吸取"2.2"项下对照品溶液 20 μl,重复进样 5 次,按上述色谱条件测定色谱峰面积,酮康唑的 *RSD* 为 1.34%,甲硝唑的 *RSD* 为 1.50%,结果表明本法精密度良好。

2.9 稳定性试验

取"2.3"项下供试品溶液,分别于放置 0、2、4、6、8、12 h 后,注入液相色谱仪,测定色谱峰面积,酮康唑的 *RSD* 为 1.27%,甲硝唑的 *RSD* 为 1.65%,结果表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.10 重复性试验

精密称取同一批样品 5 份,按"2.3"项下方法制备供试品溶液,分别测定色谱峰面积,酮康唑的平均含量为 1.82%,*RSD* 为 0.4%;甲硝唑的平均含量为 2.05%,*RSD* 为 0.3%。结果表明本法重复性良好。

2.11 回收率试验

分别精密称取酮康唑和甲硝唑对照品适量,按处方比列加入基质中制成含酮康唑、甲硝唑含量分别约为标示量的 80%、100%、120%的样品。按回归方程,测定并计算回收率。结果见表 1。

表 1　回收率试验(n=3)

Tab.1　Result of recovery (n=3)

加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		平均回收率(%)		*RSD*(%)	
酮康唑	甲硝唑	酮康唑	甲硝唑	酮康唑	甲硝唑	酮康唑	甲硝唑	酮康唑	甲硝唑
8.05	7.93	7.88	7.94	97.89	100.12				
8.16	7.92	8.08	8.09	99.01	102.14				
7.97	8.04	8.01	8.03	100.50	99.87				
10.05	10.10	10.02	10.00	99.70	99.00				
9.88	10.06	9.97	9.98	100.91	99.20	99.73	100.19	1.40	1.10
10.06	10.05	10.09	10.11	100.29	100.59				
12.12	12.01	12.01	12.04	99.09	100.25				
12.04	12.12	12.05	12.10	100.08	99.83				
11.94	11.96	12.07	12.05	100.08	100.75				

2.12 样品含量测定

取本品约 1 g(约相当于酮康唑 10 mg、甲硝唑 10 mg),精密称定,加无水乙醇适量,置 80℃水浴中溶解,放冷至室温,移至 100 ml 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,冰浴冷却 2 h 后,滤过,弃去初滤液,取续滤液 25 ml 用乙醇稀释至 50 ml,进样 20 μl,计算含量,结果见表 2。

表 2　样品含量测定(n=3)

Tab.2　Content determination of samples (n=3)

样品批号	酮康唑标示量(%)	甲硝唑标示量(%)
090104	101.12	100.50
090121	99.24	100.10
090206	102.04	101.11

3 讨论

本方法简便,准确,空白基质没有干扰,可用于酮甲霜中酮康唑和甲硝唑的含量测定。

[参考文献]

[1] 林侯,陈俊杰,林建武,等.复方酮康唑乳膏治疗外耳道真菌病疗效观察[J].中国医药导报,2006,3(24):49.

[2] 夏玉满.萘替芬酮康唑乳膏治疗手足癣疗效观察[J].中国医药导报,2006,3(35):85.

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].二部.北京:化学工业出版社,2005:614.

[4] 王海红.高效液相色谱法测定复方甲硝唑栓中甲硝唑及诺氟沙星的含量[J].中国医院药学杂志,2008,28(1):79−80

[5] 汪选斌.高效液相色谱法同时测定甲倍霜中甲硝唑和丙酸倍氯米松的含量[J].中国医院药学杂志,2007,27(12):1778−1780.

[6] 卢乙众,张永恒,丁毅,等.氯霉素甲硝唑搽剂的制备及临床应用[J].中国医药导报,2007,4(27):100−101.

[7] 赵占武.甲硝唑缓释片的制备及其体外释药的影响因素考察[J].中国医药导报,2007,4(34):66−67.

[8] 王娟.HPLC 法测定匹卡米隆分散片的有关物质[J].中国现代医生,2007,45(8):68,77.

(收稿日期:2009−12−22)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net