

HPLC 法测定氟曲马唑乳膏的含量及其有关物质

侯飞燕¹ 龙红萍² (1. 湖南怀化医学高等专科学校药理学系 湖南怀化 418000; 2. 中南大学药学院)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法测定氟曲马唑乳膏的含量及其有关物质, 为氟曲马唑乳膏制定质量控制标准。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液(用 20% 磷酸调节 pH=7.2)(70:30) 为流动相, 柱温 25℃, 检测波长为 220 nm, 流速为 1.0 ml·min⁻¹。结果: 氟曲马唑在 20~200 μg·ml⁻¹ 范围内线性关系良好($r=0.9999$), 平均回收率 99.6%, 3 批样品测定结果平均标示百分含量为 98.52%, 97.71%, 99.08%。结论: 该方法简便、快速、准确、灵敏度高、重复性好, 可用于氟曲马唑乳膏的含量及有关物质的测定。

关键词 氟曲马唑; 高效液相色谱法; 含量测定; 有关物质

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2012)03-0362-03

Determination of Flutrimazole and Related Substances in Flutrimazole Creams by HPLC

Hou Feiyan¹, Long Hongping² (1. Department of Pharmacy, Hunan Huaihua Medical College, Hunan Huaihua 418000, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Central South University)

ABSTRACT **Objective:** To establish an HPLC method for determining the content of flutrimazole creams and the related substances to lay the basis for the quality control standard. **Method:** The column of Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile - 0.05 mol·L⁻¹ phosphate buffer solution (adjusting pH to 7.2 with 20% phosphate acid) (70:30). The column temperature was 25℃, the detection wavelength was at 220 nm and the flow rate was 1.0 ml·min⁻¹. **Result:** The linear range of flutrimazole was 20~200 μg·ml⁻¹ ($r=0.9999$) and the average recovery was 99.6%. The content of flutrimazole in 3 batches of the creams was 98.52%, 97.71% and 99.08%, respectively. **Conclusion:** The method is convenient, fast, accurate and sensitive with high reproducibility for the determination of flutrimazole creams and the related substances.

KEY WORDS Flutrimazole; HPLC; Determination; Related substances

氟曲马唑(flutrimazole)是新一代咪唑类局部抗真菌药物,通过抑制羊毛甾醇-14-去甲基酶的活性,干扰麦角固醇合成,导致真菌细胞膜变性,从而达到抗真菌的作用,具有广谱抗菌活性,而且耐受性良好,毒性较小^[1-3]。氟曲马唑乳膏于 1995 年首次在西班牙上市,国内尚未见上市,本实验室以平平加 O 等为水相,氮酮等为油相,制成均匀的水包油型乳膏剂,目前国内外药品标准中均未收载。为了有效地控制产品的质量,在研究参考文献^{4,5}基础上,本文建立了高效液相色谱法测定氟曲马唑乳膏的含量及有关物质,通过不加校正因子的主成分自身对照来控制其中的有关物质。

1 仪器和试剂

BP211D 电子天平(0.000 01 g, 德国塞多利斯公司), UVProbe-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津公司), Agilent 1200 型高效液相色谱仪(配备低压四元泵、自动进样器、柱温箱 G1315B 型、DAD 检测器、ChemStations 色谱工作站, 美国安捷伦科技有限公司), LC-20A 型高效液相色谱仪, SPD-20A 型检测器。CLASS-VP 工作站。

氟曲马唑乳膏(湖南怀化医学高等专科学校药

剂学实验室提供, 20101110, 20101111, 20101112, 每支 10 g, 氟曲马唑含量为 1%), 氟曲马唑对照品(成都和康药业有限责任公司, 200907D01 批, 含量 99.6%, HPLC 法测定), 甲醇为色谱纯, 水为纯净水并经 0.45 μm 水系滤膜过滤, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液(用 20% 磷酸调节 pH=7.2)(70:30), 柱温: 25℃, 检测波长为 220 nm, 流速为 1.0 ml·min⁻¹, 进样量为 20 μl。

2.2 波长的选择

精密称取氟曲马唑对照品适量, 制成 0.5 mg·ml⁻¹ 的氟曲马唑对照品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样, 采用二极管阵列检测器紫外扫描图谱分析, 大部分辅料和破坏性试验产生的杂质的最大吸收波长在 220 nm 左右, 且 220 nm 波长下杂质数量最多, 杂质含量最高, 色谱峰总面积也最大。

2.3 溶液的配制

2.3.1 对照品溶液 氟曲马唑对照品干燥至恒重,

通讯作者: 侯飞燕 Tel: 13034856298 E-mail: houfeiyang6298@163.com

精密称取 25 mg, 置 50 ml 棕色量瓶中, 加 20 ml 甲醇, 超声使其溶解, 放冷至室温后, 甲醇定容到刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 取滤液, 作为对照品贮备液 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)。

2.3.2 氟曲马唑乳膏溶液的制备 取氟曲马唑乳膏样品适量 (相当于氟曲马唑 25 mg), 精密称定, 置 50 ml 小烧杯中, 加 20 ml 甲醇, 超声 20 min 使其完全溶解, 将溶液转至 50 ml 棕色量瓶中, 放冷至室温后, 甲醇定容至刻度。冰浴 2 h 后, 迅速取上清液, 过 0.45 μm 有机滤头, 取续滤液作为氟曲马唑乳膏溶液。

2.3.3 空白乳膏溶液的制备 按氟曲马唑处方比例 (不含氟曲马唑) 制备空白基质乳膏, 取空白基质乳膏适量 (相当于含主药氟曲马唑 25 mg 的处方辅料量), 精密称定, 按“2.3.2”项方法处理得空白乳膏溶液。

2.3.4 自身对照溶液的制备 精密量取“2.3.2”下的氟曲马唑乳膏溶液 1 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为自身对照溶液。

2.4 专属性考察

2.4.1 辅料干扰实验 分别精密吸取空白乳膏溶液、对照品溶液及氟曲马唑溶液各 20 μl , 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。氟曲马唑保留时间约为 12 min, 理论塔板数以氟曲马唑计算应 ≥ 4000 , 与杂质峰的分离度 > 1.5 , 峰对称性良好, 拖尾因子在 0.95 ~ 1.05 之间, 辅料对主药测定无干扰。

2.4.2 破坏性实验 取氟曲马唑乳膏适量, 加甲醇 20 ml 使溶解, 分别照下述方法制备: ①加 1.0 mol $\cdot$ L⁻¹ 盐酸溶液 5 ml 并放置 24 h 作为酸破坏样品; ②加 1.0 mol $\cdot$ L⁻¹ 氢氧化钠溶液 5 ml 并放置 4 h 作为碱破坏性样品; ③加入 30% 过氧化氢溶液 5 ml 并放置 24 h 作为氧化破坏样品; ④置 5000 lx 光照度下 24 h 作为光照降解样品; ⑤置 80℃ 水浴放置 2 h 作为高温破坏样品。取①~⑤的样品, 加稀释液制成每 1 ml 中约含氟曲马唑 0.5 mg 的溶液, 照“2.1”项进样测定。结果发现, 本品在高温和光照条件下稳定, 其余破坏后降解明显, 色谱图见图 1。结果表明, 用所选的色谱方法可将主成分与降解杂质完全分离。

2.4.3 最低检测限 在选定的色谱条件下, 按信噪比等于 3 ($S/N=3$) 作为最低检测限, 测得氟曲马唑的最低检测限为 5 ng $\cdot$ ml⁻¹。

2.5 线性关系和方法学考察

2.5.1 线性关系 精密量取对照品贮备液 2.0,

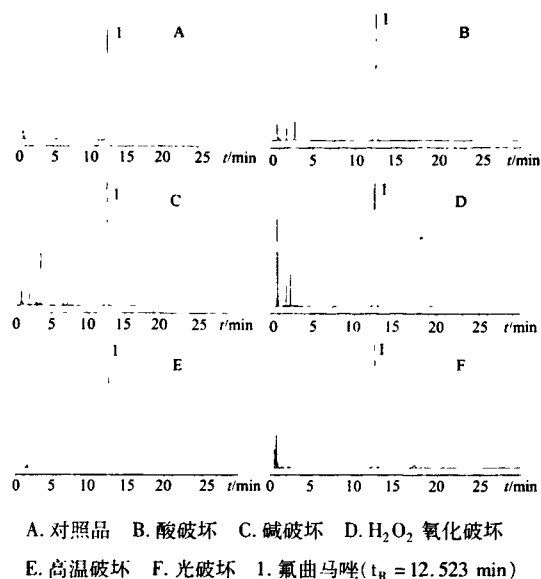


图1 破坏性实验高效液相色谱图

4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 2.0, 16.0, 20.0 ml 置 50 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即浓度为 20, 40, 60, 80, 100, 120, 160, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的系列标准浓度的氟曲马唑溶液。分别精密吸取 20 μl , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 峰面积 (A) 对浓度 (C) 进行线性回归分析, 得标准曲线方程: $A = 1797.65C + 229.44$ ($r = 0.9999, n = 7$), 结果表明在 20 ~ 200 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

2.5.2 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液 20 μl 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 结果氟曲马唑峰面积的 RSD 为 0.39% ($n = 6$)。

2.5.3 回收率试验 精密称取干燥至恒重的氟曲马唑对照品约 20, 25, 30 mg 各 3 份, 分别置 50 ml 烧杯中, 加空白基质 (按照处方比例制备的不含氟曲马唑制备的空白乳膏) 约 0.5 g, 用甲醇溶解, 制成相当于标示量的 80%, 100%, 120% 的溶液作为供试品, 按“2.2”项色谱条件测定, 并计算回收率, 结果平均回收率为 99.6%, RSD 为 0.65% ($n = 9$)。

2.5.4 溶液稳定性试验 分别精密吸取氟曲马唑乳膏溶液 20 μl , 室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按“2.2”项下色谱条件测定, 并记录峰面积, 结果 RSD 为 0.24% ($n = 6$), 表明样品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 取同一批号样品 (批号 20101110), 分别按“2.3.2”项下方法平行制备成 6 份供试品溶液。精密吸取供试品溶液 20 μl 注入液相色谱仪, 按“2.2”项下色谱条件测定, 并记录峰面积, 采用外标法以峰面积计算氟曲马唑的含量。结果平均含量为标示量 98.52%, RSD 为 0.52% ($n = 6$)。

2.6 样品测定

分别取本品3批样品适量约0.5 g(相当于氟曲马唑5 mg),按“2.3.2”项下按方法制备氟曲马唑乳膏溶液,分别精密吸取氟曲马唑乳膏溶液和对照品溶液各20 μ l注入液相色谱仪,按“2.2”项下色谱条件进行测定,记录色谱图,按外标法以峰面积计算,结果见表1。

表1 氟曲马唑乳膏含量测定结果(% ,n=3)

批号	标示量百分含量
20101110	98.52
20101111	97.71
20101112	99.08

2.7 有关物质检查

精密称取本品约2.5 g(约相当于氟曲马唑25 mg),按“2.3.2”项下按方法制备氟曲马唑乳膏溶液,精密量取供试品溶液1.0 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为自身对照溶液;吸取对照溶液20 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰(即氟曲马唑色谱峰)保留时间的3倍。供试品溶液的色谱图中如显杂质峰,测量供试品溶液色谱图上各杂质峰面积总和及最大杂质峰的峰面积并与自身对照溶液主成分的峰面积比较,计算杂质含量和最大杂质含量。3批样品有关物质检查,结果见表2。

表2 氟曲马唑乳膏有关物质测定结果

批号	最大杂质(%)	有关物质总量(%)
20100416	0.13	0.29
20100418	0.13	0.33
20100420	0.13	0.31

3 讨论

在乳膏中药物的破乳和提取中试验考察了甲醇、三氯甲烷及流动相系统,结果表明由于基质的干

扰,甲醇破乳完全且对药物的提取率好。通过样品及空白辅料的破坏性实验,表明本法可检测破坏后的降解峰,且氟曲马唑与有关物质破坏产物能有效分离,辅料对有关物质测定不产生干扰,证明该色谱条件可行。

本试验在建立有关物质检查方法时,由于未得到氟曲马唑中间体及降解产物的对照品,因此采用不加校正因子的主成分自身对照法对氟曲马唑乳膏进行检测和定量。方法简单表明此方法操作简便,可行性强,重复性好,可有效地控制该制剂的质量。

本实验采用HPLC法对3个不同批号的氟曲马唑乳膏的含量和有关物质进行测定和标准制定时,参考国内外医药类似产品的控制标准(总杂质不大于1.5%,最大杂质不大于0.5%),为了更好地控制氟曲马唑乳膏的质量,内部标准对其限量要求规定总杂质不大于0.5%,最大杂质不大于0.2%,对于严格控制其限度具有重要的指导意义。

参 考 文 献

- 1 Pereda J, Noguera X, Boncompte E, et al. Efficacy of flutrimazole 1% powder in the treatment of tinea pedis [J]. *Mycoses*, 2003, 46(3-4): 126-131
- 2 Del Palacio A, Sanz F, Sanchez-Alor G, et al. Double-blind randomized dose-finding study in acute vulvovaginal candidosis. Comparison of flutrimazole site-release cream (1, 2 and 4%) with placebo site-release vaginal cream. [J]. *Mycoses*, 2000, 46(9-10): 355-365
- 3 Noguera J, Leris E, Alguero M, et al. Review of the clinical efficacy of flutrimazole gel in the treatment of dandruff and/or seborrheic dermatitis [J]. *Revista iberoamericana de micologia*, 1998, 15(1): 28-32
- 4 江相兰, 杨冬芝, 林奇泗, 等. 高效液相色谱法测定氟曲马唑含量和有关物质[J]. *分析化学(增刊)*, 2009, 37(10): D100
- 5 中国药典[S]. 2010年版. 二部. 附录29
(2011-10-13 收稿 2011-12-19 修回)

欢迎订阅 2012 年《药学报》

《药学报》(CN:11-2163/R, ISSN:0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目:述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态,报道药学领域原创性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。《药学报》为我国自然科学核心期刊,已被世界主要检索系统收录,为我国药学界高水平的学术刊物,多次荣获“国家期刊奖”等各种奖励。128页,月刊,大16开本。每期定价40元,全年定价480元。国内邮发代码:2-233,国外代码:M105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

- 通过当地邮局;
- 通过 E-mail (yxxb@imm.ac.cn) 或从网上 (www.yxxb.com.cn) 下载订阅单,填好后寄至编辑部;
- 通过该刊编辑部,联系人:李淑芬、张晓晔,电话:86-10-63165208,传真:86-10-63035012,编地址:北京市先农坛街1号《药学报》编辑部,邮编:100050。

HPLC法测定氟曲马唑乳膏的含量及其有关物质

作者：[侯飞燕](#)，[龙红萍](#)，[Hou Feiyan](#)，[Long Hongping](#)
作者单位：[侯飞燕, Hou Feiyan\(湖南怀化医学高等专科学校药学系 湖南怀化418000\)](#)，[龙红萍, Long Hongping\(中南大学药学院\)](#)
刊名：[中国药师](#)
英文刊名：[China Pharmacist](#)
年，卷(期)：2012, 15(3)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgys201203028.aspx