

醋酸氟轻松乳膏的含量测定研究*

赵 喆,唐素芳

(天津市药品检验所,天津 300070)

摘要 目的:建立 HPLC 法测定醋酸氟轻松乳膏的含量方法。方法:Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,甲醇-乙腈-水(60:10:30)为流动相,流速 1.0 ml/min,检测波长 240 nm,进样量 20 μl。结果:醋酸氟轻松线性范围为 5.05~50.5 μg/ml($r=0.9999$),平均回收率为 101.4%($n=9$)。结论:本方法准确、简便、快速,可满足醋酸氟轻松乳膏的含量测定。

关键词 高效液相色谱法,醋酸氟轻松乳膏,含量测定

中图分类号:R927.11

文献标识码:A

文章编号:1006-5687(2009)03-0030-03

Determination of the content of fluocinonide ointment by HPLC

Zhao Zhe, Tang Sufang

(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070)

ABSTRACT Objective: To establish an HPLC method for the determination of the fluocinonide ointment. Method: A chromatographic column of Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm) was applied as a stationary phase and methanol-acetonitrile-water(60:10:30) as mobile phase, the flow rate of which was 1.0 ml/min. The detection wavelength was at 240 nm and the injected volume was 20 μl. Results: The linear range of the assay was within 5.05~50.5 μg/ml($r=0.9999$) and the average recovery was 101.4%($n=9$). Conclusion: The method established here is simple, rapid, specific and accurate.

KEY WORDS HPLC, fluocinonide ointment, content

醋酸氟轻松为肾上腺皮质激素药物,主要用于治疗过敏性皮炎、神经性皮炎和接触性皮炎等常见皮肤病。醋酸氟轻松乳膏质量标准执行《中国药典》2005年版二部^[1],含量测定采用 HPLC 内标法,其中流动相组分含有甲醇、水和乙醚,与原料药的流动相系统存在一定差异。由于乙醚具有很强的挥发性,受实验环境温度影响较大,常导致色谱系统不稳定,分析结果重复性不好,造成误差。本实验采用醋酸氟轻松原料含量测定色谱系统,通过考查醋酸氟轻松原料的专属性试验,修订了系统适用性试验,完善了现有的色谱系统,同时将内标法修订为外标法,简化了实验操作程序,结果准确、可靠,与原方法测定结果基本一致。该方法不仅统一了醋酸氟轻松原料和制剂的含量测定方法,而且为新版《中国药典》的修订提供了依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津),包括 LC-10ATvp 泵,SPD-10A 紫外检测器,Class-VP 色谱工作站。醋酸氟轻松对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 100010-200507),醋酸氟轻松原料(天津太平洋制药有限公司生产,批号 070202),醋酸氟轻松乳膏样品,来自天津、重庆、山东等 4 个生产厂家 8 批样品。甲

醇、乙腈为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Sepax Sapphire C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)色谱柱,甲醇-乙腈-水(60:10:30)为流动相,流速 1.0 ml/min,检测波长 240 nm,柱温,40℃,进样量 20 μl。理论板数按醋酸氟轻松峰计算为 4900。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取醋酸氟轻松对照品 14 mg,精密称定,置 100 ml 量瓶中,加甲醇 60 ml 与乙腈 10 ml 使溶解,用水稀释至刻度,摇匀,精密量取该溶液 5 ml,置 50 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取醋酸氟轻松乳膏适量(约相当于醋酸氟轻松 1.4 mg),精密称定,置 100 ml 量瓶中,加甲醇约 60 ml,置 80℃水浴中加热 2 min,振摇使醋酸氟轻松溶解,放冷至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀,置冰浴中冷却 2 h 以上,取出后迅速滤过,放至室温,作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方分别称取除醋酸氟轻松以外的其他成分和辅料,照制备工艺制成空白基质,

* 收稿日期:2009-02-18

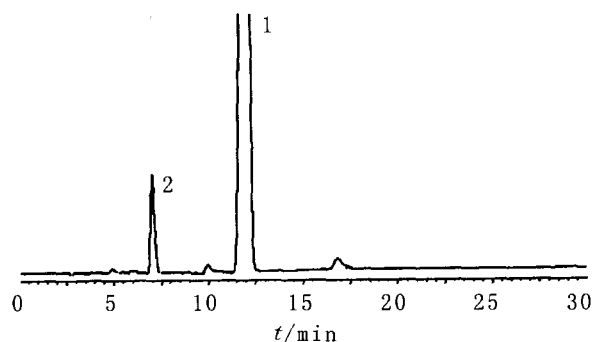
精密称取适量,依“2.2.2”项下方法,制备溶液,作为阴性对照溶液。

2.3 方法专属性

2.3.1 破坏试验 取醋酸氟轻松对照品,加甲醇溶解并制成1.4 mg/ml的溶液,作为储备溶液,分别量取5 ml,进行①酸破坏:加1 mol/L的盐酸溶液2 ml,水浴加热10 min,放冷,用氢氧化钠试液调至pH值为中性,用流动相稀释至50 ml。②碱破坏:加0.1 mol/L的氢氧化钠溶液0.1 ml,水浴加热5 min,放冷,用11 mol/L的盐酸溶液调至pH值为中性,用流动相稀释至50 ml。③氧化破坏:加10%过氧化氢溶液2 ml,水浴加热5 min,放冷,用流动相稀释至50 ml。④高温破坏:加流动相5 ml,水浴加热40 min,放冷,用流动相稀释至50 ml。⑤光照破坏:取供试品溶液(0.14 mg/ml)日光照射6 d。分别取上述5种溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱图,结果表明,在上述5种试验条件下,供试品溶液检出杂质峰的个数与杂质的量均有不同程度的增加,尤其相对保留时间约为0.59的杂质峰,在不同的破坏条件下均有明显的增加,与主峰的分度良好。经分析,该降解杂质可能为氟轻松,因在国内外均未能找到氟轻松对照品的生产商和供应商,而无法验证,故采用高温破坏的方法制备色谱系统适用性溶液,以完善色谱系统,并将含量测定的内标法修订为外标法,简化了操作程序。

2.3.2 系统适用性试验的确定 取醋酸氟轻松对照

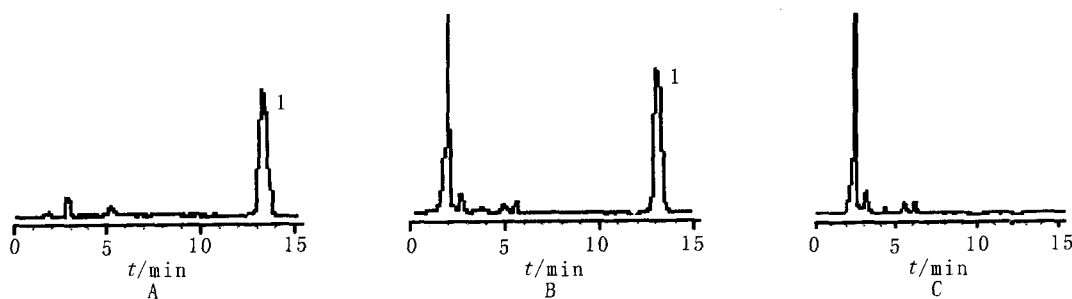
品约14 mg置100 ml量瓶中,加甲醇60 ml、乙腈10 ml溶解,置水浴上加热20 min,放冷,加水稀释至刻度,摇匀,量取20 μ l注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定,在记录的色谱图中,醋酸氟轻松峰的 t_R 为11.8 min,杂质1的(t_R 为7.0 min)量增加明显,相对保留时间为0.59,二者的分离度为10.9;再取供试品3份,同法操作,均得到相同的结果,故将该方法增订为系统适用性试验,见图1。



1. 醋酸氟轻松 2. 杂质1

图1 系统适用性试验色谱图

2.3.3 阴性对照试验 精密量取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各20 μ l分别注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定。在记录的色谱图中,空白基质对醋酸氟轻松的测定无干扰。见图2。



1. 醋酸氟轻松

图2 对照品(A)供试品(B)阴性对照品(C)HPLC 色谱图

2.4 线性关系试验 取醋酸氟轻松原料约50 mg,精密称定,置100 ml量瓶中,加甲醇60 ml、乙腈10 ml溶解,加水稀释至刻度,摇匀,分别精密量取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、8.0和10.0 ml,各置100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,制成浓度为5~50 μ g/ml系列溶液,分别精密量取上述溶液20 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图;以浓度为横坐标(C),以峰面积为纵坐标(A),进行线性回归。结果表明,醋酸氟轻松在5.05~50.5 μ g/ml浓度范围内与其峰面积呈良好线

性关系,其线性方程为 $A = 37\,048\,C - 1\,091.5$, $r = 0.999\,9$ ($n = 7$)。

2.5 回收率试验 精密称取醋酸氟轻松对照品28 mg,置200 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备溶液。精密称取空白基质5.6 g 9份,各置100 ml量瓶中,分别精密加入对照品储备溶液8.0、10.0和12.0 ml各3份,加甲醇约60 ml,置80 $^{\circ}$ C水浴中加热2 min,放冷至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀,置冰浴中冷却2 h以上,取出后迅速滤过,放

至室温,照“2.1”项下色谱条件测定,计算,结果醋酸氟轻松的平均回收率为101.4% RSD为0.6% ($n=9$)。见表1。

表1 回收率测定结果($n=9$)

范围	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
80%	1.123 6	1.134 8	101.0
	1.123 6	1.147 2	102.1
	1.123 6	1.137 2	101.2
100%	1.404 5	1.432 5	102.0
	1.104 5	1.429 3	101.8
	1.104 5	1.433 0	102.0
120%	1.685 4	1.714 3	101.7
	1.685 4	1.689 4	100.2
	1.685 4	1.699 3	100.8

2.6 精密度试验 称取同一批样品6份,照“2.2”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件连续测定,计算,结果醋酸氟轻松含量平均为95.4%,RSD为0.5% ($n=6$)。

2.7 溶液的稳定性试验 取对照品溶液及供试品溶液适量,照“2.1”项下色谱条件,分别在0、4、8和24 h进样测定,考查峰面积,结果表明对照品溶液及供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.8 样品含量测定 取4个生产厂家8批样品,照“2.2.2”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,按外标法以峰面积计算,结果见表2。

2.9 粗放度试验 按照上述测定方法,使用同台仪器,采用3种色谱柱,从每个生产厂家选择1批样品为代表,进行粗放度考核,结果见表3。3个色谱柱分别为:1#柱:Sepax Sapphire C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),新柱;2#柱:Sepax Sapphire C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),旧柱;3#柱:Agilent Extend C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。上述结果表明,本方法粗放度较好。

表2 采用外标法样品含量测定结果

生产厂家	样品批号	含量(%)
天津太平洋制药有限公司	070205	96.6
	070719	93.6
	080304	90.8
重庆科瑞制药责任有限公司	080205	93.2
	080206	92.7
	080207	93.2
天津药业集团新郑股份有限公司	080121	89.0
山东鲁抗辰欣药业有限公司	0801051	95.3

表3 粗放度试验结果

样品批号	含量(标示量%)		
	1#柱	2#柱	3#柱
080304	90.8	90.2	91.1
080205	93.2	92.7	93.0
080121	89.0	86.8	88.0
0801051	95.3	95.2	96.2

3 讨论

3.1 色谱系统的选择 本实验采用醋酸氟轻松原料含量测定项下的色谱条件,选用甲醇-乙腈-水系统,克服了原方法色谱系统^[1]中含有乙醚对实验的影响,实验数据稳定,优于原方法。

3.2 本文修订了系统适用性试验,完善了现有的色谱系统,同时将内标法修订为外标法,简化了实验操作程序,结果准确、可靠。该方法不仅与醋酸氟轻松原料含量测定方法进行了统一,而且为新版《中国药典》的修订提供了依据。

参考文献

- 1 中国药典.二部.2005.848-849

《天津药学》杂志投稿要求

《天津药学》杂志为综合性药学专业科技期刊,设有实验研究、药品质量与检验、药物与临床、中药、药品不良反应、药物经济学、综述、世界药物、医药工业、医药管理、医药经济、执业药师、药英语园地、新药介绍等栏目。为提高刊物编辑水平,投寄我刊稿件请按以下要求撰写。

文稿内容应具科学性、逻辑性、新颖性,结构严密,论点明确,层次分明,文字简炼,语句通顺,数据可靠。提倡写短文。

超过2000字的文章请在正文前写出200字以内的文章摘要和3~5个关键词,科学研究、实验方法等文章摘要需按报道性摘要要求撰写,内容包括论文的目的、方法、结果和结论。重要文章需附英文文题、作者姓名的汉语拼音及所在单位的英文译名,同时写出与中文相对应的英文摘要和关键词。文章摘要是全文的精华,阅读文章摘要就能了解全文的主要内容,避免使用对论文内容主观评价的空洞词句。关键词尽量采用《汉语主题词表》等提供的规范词汇。