反相高效液相色谱法测定丙酸氯倍他索透剂的含量

徐善超[1],裘叶舟[2],徐宏祥[3](1.嘉兴市第二医院,浙江 嘉兴 314001;2.宁波医药高等专科学校,3.嘉兴市药品检验所)

摘要:目的 建立反相高效液相色谱法测定丙酸氯倍他索透剂含量的方法。方法 以 shim-Pack ODS 为色谱柱,以 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用 85%磷酸调节 pH 为 2.6±0.01)-乙腈(30∶70)为流动相,检测波长为 240nm,流速为 0.8mL/min。结果 丙酸氯倍他索浓度在 20.9~125.6μg/mL 之间与峰面积线性关系良好,$r=0.9998$,$n=5$;回收率为 100.68%,RSD=

0.52%, $n=6$。结论　本法准确、快速、简便、重现性好,且不受辅料干扰,适用于该制剂的含量测定。

关键词:丙酸氯倍他索;反相高效液相色谱法;含量测定
中图分类号:917.701;R986　　文献标识码:B　　文章编号:1007-7693(2004)06-0507-03

Determination of clobetasol propionate in liniment by RP-HPLC

XU Shan-chao, QIU Ye-zhou, XU Hong-qiang (*The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing* 314001, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE The method for determination of clobetasol propionate liniment by RP-HPLC was established. **METHOD** A Shim-Pack ODS column was adopted. The mobile phase consisted of 0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate (adjusted to pH 2.6±0.01 by 85% phosphoric acid)-acetonitrile (30∶70) with the flow rate of 0.8 mL/min. UV detective wavelength was 240 nm. **RESULTS** Linear range of clobetasol propionate was 20.9~125.6μg/mL with $r=0.9998$ ($n=5$). The recovery was 100.7% and RSD=0.52% ($n=6$). **CONCLUSION** The method is accurate, reliable, simple and reproducible, it can be used for quality control of this preparation.

KEY WORDS: clobetasol propionate; RP-HPLC; determination

丙酸氯倍他索透剂由丙酸氯倍他索、月桂氮䓬酮、丙二醇、乙醇等组成,是我院临床皮肤科常用制剂之一,主要用于治疗神经性皮炎、湿疹、接触性皮炎、脂溢性皮炎、局限性瘙痒症等。由于该制剂质量标准无含量测定方法,质量难以有效控制。有关丙酸氯倍他索含量测定方法主要有高效液相色谱法[1,2],为此,我们参照有关文献资料,经摸索建立了反相高效液相色谱法测定丙酸氯倍他索透剂的含量,方法简便、快速、准确、结果满意。

1　仪器与试药

日本岛津 LC-10ATVP 型高效液相色谱仪,SPD-10AVP 型紫外检测器。丙酸氯倍他索对照品(中国药品生物制品检定所提供)丙酸氯倍他索透剂 3 批(本院制剂)批号分别为 20021025, 20021126, 20021127,乙腈为 HPLC 纯,磷酸(85%),磷酸二氢钾均为分析纯,水为纯化水,丙二醇、月桂氮䓬酮均为药用规格。

2　方法与结果

2.1　色谱条件与系统适用性试验

以 Shim-Pack ODS(5μm,4.6mm×150mm,日本岛津)为色谱柱,0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用 85%磷酸调节 pH 为 2.6±0.01)-乙腈(30∶70)为流动相,流速为 0.8 mL/min,检测波长为 240nm,进样量为 20μL,室温操作。在给定的色谱条件下进样,结果表明,丙酸氯倍他索出峰时间约为5.6 min,且峰形对称,理论板数达到 5 000。

2.2　线性关系考察

精密称取经 105℃干燥至恒重的丙酸氯倍他索对照品 52.34 mg 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。再分别精密量取 0.2,0.6,0.8,1.0,1.2 mL 分置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,分别进样 20μL。每个浓度重复进样 2 次,以 2 次的平均峰面积($Y\times10^6$)对浓度(μg/mL)作图。建立回归方程为 $Y=-0.0156+0.0234C$, $r=0.9998$。表明在 20.9~125.6μg/mL 内呈良好的线性关系。

2.3　回收率试验

按处方配比,在辅料中分别精密加入对照品贮备液,配制三个不同浓度的模拟样品溶液,浓度范围±20%,按照样品测定项下方法操作,测得回收率为 100.68%, RSD=0.52%, $n=6$。

2.4　精密度与稳定性试验

取同一批样品溶液连续进样 5 次,测定峰面积,计算 RSD=0.26%($n=5$)。样品溶液经 0,4,8,16 和 24h 测定峰面积,测得结果基本一致,RSD=0.58%。

2.5　样品测定

精密量取样品 6 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。另用对照品贮备液配制约 80μg/mL 的丙酸氯倍他索对照品溶液,各进样 20μL,记录色谱图,按峰面积外标法计算样品的含量,结果平均含量($n=3$)为:批号 20021025,含量 98.5%, RSD=0.4%;批号 20021126,含量 99.6%, RSD=0.5%;批号 20021127,含量 97.9%, RSD=0.4%。

3　讨论

3.1　溶剂的选择

丙酸氯倍他索在乙醇中略溶,在水中不溶。经试验用乙醇作溶剂,峰形展宽,柱效下降。而改用甲醇作溶剂,峰形尖锐、对称,柱效显著提高。在给定的色谱条件下,理论板数达到 5 000 以上,故选择甲醇作溶剂。

3.2　流动相的选择

曾试验用甲醇-水,甲醇-0.1 mol/L 醋酸盐缓冲液,甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(pH=3.7)及乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(pH=2.6)作流动相,结果前 3 种流动相丙酸氯倍他索均不出峰,表明在 ODS 色谱柱上,丙酸氯倍他索的保留能力较强,单用甲醇调节极性不能有效将其洗脱。采用药典方法[1],在甲醇-0.05 mol/L 磷酸氢钠溶液(用 85%磷酸调节 pH2.5)中加入一定比例的乙腈,则大大增强洗脱能力,但不能使制剂中丙酸氯倍他索与降解产物达到良好分离。

实验也表明,采用乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用 85 % 磷酸调节 pH2.6)二元溶剂系统优于乙腈-甲醇-0.05 mol/L 磷酸氢钠溶液的三元溶剂系统,前者组成简单使降解产物与主成分峰的分离更好,同时,选择磷酸二氢钾比磷酸氢钠调节离子强度改善分离效果更明显。还有,流动相的 pH 值也是一个重要的影响因素,选择乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液作为流动相,当流动相 pH 值由 3.7 降到 2.6 时,出峰时间显著加快,同时提高乙腈的比例,有利于增加流动相的洗脱能力,提高柱效,当乙腈比例提高到 70 %时,可使丙酸氯倍他索的降解产物达到分离,不干扰测定,在本实验选用的色谱条件下,丙酸氯倍他索峰形尖锐、对称,与降解产物峰的分离度大于 1.5,10 min 内即可完成整个色谱过程。

参考文献

[1] 中国药典 2000 年版.二部[S].2000:103.

[2] 廖辉怡,申放,黄里靖.HPLC 法同时测定酮康他索软膏中酮康唑和丙酸氯倍他索的含量.药物分析杂志,2002,22(5):395.

收稿日期:2003-10-03