

• 药物分析 •

# 复方醋酸氟轻松软膏含量测定方法的改进

杨锡祥<sup>1</sup>, 谷 莉<sup>2</sup> (1. 淮南市药品检验所, 淮南 232007; 2. 解放军第 534 医院, 洛阳 471003)

**摘要** 目的: 改进复方醋酸氟轻松软膏含量测定方法。方法: 采用 RP-HPLC 法, 提取过滤后加内标。ODS 柱(250mm × 4.6mm, 5 $\mu$ m), 以甲醇-水-乙醚(62:38:2, v/v/v) 为流动相, 检测波长为 240nm, 流速为 1.0ml·min<sup>-1</sup>。结果: 改进后的方法精密度及准确度均较满意。结论: 改进后的方法解决了原方法存在的问题, 对软膏剂的含量测定具有普遍意义。

**关键词** 复方醋酸氟轻松; 高效液相色谱法; 软膏

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2002)03-0171-03

## The improve of the method for determination compound fluocinonide ointment

YANG Xi-Xiang<sup>1</sup>, GU Li<sup>2</sup> (1. Huainan Institute for Drug Control, Huainan 232007, China; 2. The 534th Hospital of PLA, Luoyang 471003, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE:** To improve the method for determination compound fluocinonide ointment. **METHODS:** A method of RP-HPLC be used, plus the internal standard after extraction and filter. ODS column (250mm × 4.6mm, 5 $\mu$ m) was selected and the mobile phase was consisted of methanol-water-ether(62:38:2, v/v/v) at flow rate of 1.0ml·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 240nm. **RESULTS:** The precision and the accuracy of improved method are good. **CONCLUSION:** The problem of the old method was solved with this improved method and have a universal significance for the determination of ointment preparation.

**KEY WORDS** compound fluocinonide; RP-HPLC; ointment

复方醋酸氟轻松软膏为常用皮肤抗过敏药, 主药成分为醋酸氟轻松, 与多种基质成分混合后制成水包油(O/W)型乳剂型软膏<sup>[1]</sup>。测定方法多采用有机溶剂提取后, 分离除去基质, HPLC 法测定。美国药典采用离心法分离基质, 取上清液进样测定<sup>[2]</sup>。此法不适合国内软膏剂的基质配方<sup>[3]</sup>。安徽省药品标准(皖Q/WS-19-95)中参照《中国药典》1995年版中“醋酸氟轻松软膏”项下的方法测定<sup>[4]</sup>, 但在实际工作中发现此方法存在许多缺陷。

### 1 存在问题

#### 1.1 问题的提出

中国药典“醋酸氟轻松软膏”项下的方法为: 以快诺酮为内标, 用甲醇制成每 1ml 中约含 0.15mg 的溶液。精密称取样品适量(约相当于醋酸氟轻松 1.25mg), 置 50ml 量瓶中, 加甲醇约 30ml, 80℃水浴加热 2min 使醋酸氟轻松溶解, 放冷至室温, 精密加入内标溶液 5ml, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 冰浴中冷却 2h 以上, 取出后迅速滤过, 放至室温, 取滤液

20 $\mu$ l 注入液相色谱仪; 另取醋酸氟轻松对照品同法操作, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算。由于对照品液和样品液中内标物加入量相同, 因此, 记录的色谱图中样品液和对照品液的内标峰面积值应相同, 但实际测定时二者有较大差异, 样品液内标峰面积均大于对照品液内标峰面积, 且增加程度不确定, 如表 1 所示。

表 1 内标峰面积增加值统计

| 批号      | 内标峰面积均值   |           | 增加值(%) |
|---------|-----------|-----------|--------|
|         | 对照液(n=5)  | 样品液(n=2)  |        |
| 0102041 | 199445.6  | 234674.5  | 17.7   |
| (复测)    | 561207.2  | 581320.5  | 3.6    |
| 0109042 | 1162214.6 | 1234979   | 6.3    |
| 0109052 | 1162214.6 | 1264111.5 | 8.8    |
| 0109062 | 1162214.6 | 1249836.5 | 7.5    |

以批号 0109042, 0109052, 0109062 这 3 批样品的系统适用性试验(对照品液)内标峰面积作为样本 1, 以上述三批样品的内标峰面积作为样本 2, 利用小样本数的 t 检验进行均值比较, 其中 n<sub>1</sub>=5, n<sub>2</sub>=6, x<sub>1</sub>=1162214.6, x<sub>2</sub>=1249642, s<sub>1</sub>=8114.73, s<sub>2</sub>=

14486.5, 经计算  $|t| > t_{0.05, 8}$ 。说明两组均值间存在显著性差异, 即对照品和样品内标峰面积之间存在系统误差。

## 1.2 原因分析

**1.2.1 进样量偏大** 当进样量为 20 $\mu$ l 时, 无论内标物还是对照品峰, 均出现明显的前拖尾现象, 提示有柱过载情况<sup>[3]</sup>, 其中对照品由于保留时间过长, 峰出现分离, 给定量带来了困难。经过将进样量减小 1 倍, 改为 10 $\mu$ l, 结果内标物和对照品峰形均大大好转, 对称无拖尾, 理论板数 ( $n = 10351$ ) 和重复性 ( $RSD = 0.45\%$ ) 均大大高于《中国药典》2000 年版二部附录 V<sub>D</sub> 的要求, 满足了含量测定的要求。

**1.2.2 基质体积的影响** 由于主药含量极低 (0.01%), 取样量必须足够大 (12.5g), 样品于 80 $^{\circ}$ C 水浴溶解提取后, 放至室温, 一方面由于提取液稠度增大, 流动性降低, 内标液加入后不易混匀; 另一方面由于 O/W 的乳剂型基质在甲醇溶液中 80 $^{\circ}$ C 下被破坏, 部分不溶或难溶于甲醇的基质如白凡士林、十八醇等重新析出, 加入后的内标液无法进入析出后的固体中, 定容后, 其溶液部分的内标物浓度必然大于相应对照液定容后的浓度。另外, 由于破坏后的基质为一液体和半固体的多相混合物, 使得内标液加入后难以混合均匀, 直接的反映就是内标物峰面积增大的程度不确定。因此, 对于基质体积所占比重过大的剂型, 其对测定结果的影响不可忽视。

## 2 方法改进

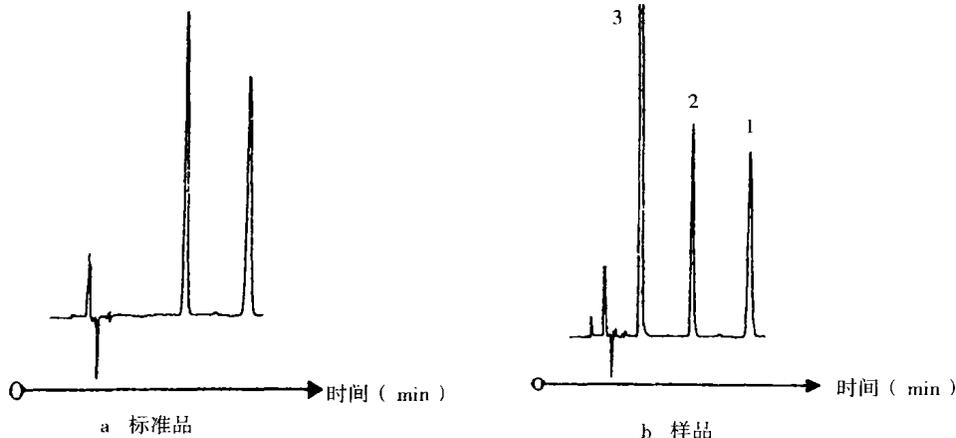


图 1 复方醋酸氟轻松软膏的色谱图

1- 内标物; 2- 对照品; 3- 溶剂峰

**2.2.3 精密度试验** 依照改进后的方法, 精密称取批号为 0109042、0109052、0109062 的样品各 3 份, 分别进行测定, 对照品液 RF 值的  $RSD$  和测得样品含量的  $RSD$  见表 2。

## 2.1 仪器与试剂

美国 SP 公司 SP8810 型高效液相色谱仪, SP100 型检测器, SP4290 型积分仪。瑞士梅特勒 AE240 型电子分析天平。醋酸氟轻松对照品 (批号: 010-9305)、快诺酮 (批号: 0053-9303) 均由中国药品生物制品检定所提供。样品由淮南市第五制药厂提供。甲醇为色谱纯, 乙醚为 AR, 水为重蒸馏水。

## 2.2 方法与结果

**2.2.1 改进后方法** 内标溶液制备: 取快诺酮适量, 加甲醇制成每 1ml 中约含 0.0375mg 的溶液。测定法: 精取醋酸氟轻松对照品适量, 加甲醇溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 0.0125mg 的溶液; 精取该溶液 25ml, 加内标溶液 5ml, 混匀, 取 10 $\mu$ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另取本品适量 (约相当于醋酸氟轻松 0.625mg), 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 加甲醇约 30ml, 置 80 $^{\circ}$ C 水浴中加热 2min, 振摇使醋酸氟轻松溶解, 放至室温, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 冰浴中冷却 2h 以上, 取出后迅速滤过, 续滤液放至室温, 精取 25ml, 加内标液 5ml, 摇匀, 取 10 $\mu$ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算。

**2.2.2 色谱条件** 色谱柱: 美国 Supelco C<sub>18</sub> 柱 (250mm  $\times$  4.6mm, 5 $\mu$ m), 流动相: 甲醇-水-乙醚 (62 : 38 : 2, v/v/v), 流速: 1.0ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 检测波长: 240nm, 灵敏度: 0.01 AUFS, AT = 64, 柱温: 室温, 进样量: 10 $\mu$ l。上述色谱条件下对照品液和样品液的醋酸氟轻松及内标物的色谱行为为见附图。

表 2 样品及对照品液精密度试验结果

|                 | 对照品液 RF 值<br>(n = 5) | 样品含量 (%) (n = 3) |                 |                |
|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|----------------|
|                 |                      | 0109042          | 0109052         | 0109062        |
| $\bar{x} \pm s$ | 0.3130 $\pm$ 0.0031  | 97.1 $\pm$ 0.5   | 106.3 $\pm$ 0.5 | 97.9 $\pm$ 0.9 |
| RSD (%)         | 0.98                 | 0.35             | 0.30            | 0.69           |

**2.2.4 加样回收率试验** 精密称取醋酸氟轻松对照品适量,用甲醇配制成浓度为 50 $\mu$ g/ml 的溶液;另取已知含量(97.1%)的复方醋酸氟轻松软膏,按改进后的方法精密称取 5 份,自“精密量取 25ml”后,分别精密加入上述溶液 1.5ml, 2.0ml, 2.5ml, 3.0ml, 3.5ml,同时调整检测器灵敏度为 0.05,测得回收率结果见表 3。

表 3 加样回收率测定结果

| 编号 | 加入量<br>( $\mu$ g) | 测得量<br>( $\mu$ g) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | RSD<br>(%) |
|----|-------------------|-------------------|------------|--------------|------------|
| 1  | 76.5              | 74.3              | 97.1       |              |            |
| 2  | 102.0             | 103.2             | 101.2      |              |            |
| 3  | 153.0             | 151.2             | 98.8       | 99.4         | 1.6        |
| 4  | 204.0             | 203.2             | 99.6       |              |            |
| 5  | 255.0             | 262.6             | 100.3      |              |            |

**2.2.5 方法专属性考察** 溶剂的色谱峰均在低  $R_t$  值区域,基质中的溶出成分色谱峰位于  $R_t$  5.5min 以内和  $R_t$  11.6min 左右,均不干扰内标峰( $R_t$  9.5min)和样品峰( $R_t$  14min)。

### 3 讨论

改进后的方法减少了样品的取样量,使样品的溶解提取更加充分。称样后的转移操作也更容易进行,易于转移完全。冷至室温后,不溶性基质所占比例相对较小,减小了由于基质体积引入的误差。残余的可溶成份不影响主药的测定。

以精密度试验中的系统适用性试验内标峰面积做为样本 1,3 批样品共 9 针的内标峰面积作为样本 2,利用小样本的 t 检验进行均值比较,其中  $n_1 = 5$ ,  $n_2 = 9$ ,  $x_1 = 484310$ ,  $x_2 = 481422$ ,  $s_1 = 4263.96$ ,  $s_2 = 5981.35$ ,经计算可得  $|t| < t_{0.05,12}$ 。说明两组均值之间不存在显著差异,即对照品液和样品液内标峰面积之间不存在系统误差。

#### 参考文献:

[1] 中国药典 1995 版[S]. 二部. 1995:1088.  
 [2] USP XX III版[S]. 1995: 670.  
 [3] 马剑文,等,现代药品检验学[M]. 北京:人民军医出版社, 1994: 452.  
 [4] 安徽省药品标准[S]. 皖 Q/WS- 19- 95.

收稿日期: 2002- 01- 15

## 尿液中对乙酰氨基酚的含量测定

杨道纳(浙江苍南县卫生监督所, 苍南 325800)

关键词 对乙酰氨基酚; 尿液; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2002) 03- 0173- 02

口服对乙酰氨基酚片剂后,约有 80% 的药物与葡萄糖醛酸、硫酸等结合为络合物,3% 以原形药由肾排泄<sup>[1]</sup>。对乙酰氨基酚及其络合物在酸性条件下水解为对氨基酚,在次溴酸钠存在下与苯酚发生反应,生成靛兰染料,在  $\lambda_{max}$  620nm 处有最大吸收<sup>[2]</sup>,而尿液中黄色物质在 620nm 处基本无吸收,利用此性质测定尿液中对乙酰氨基酚的含量,结果令人满意,现报告如下。

### 1 仪器与试剂

7520 型紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂)。

对乙酰氨基酚对照品(温州制药厂);对乙酰氨基酚片(0.3g/片,汕头金石制药总厂,批号:980218)。

4mol/L 盐酸,0.2mol/L 氢氧化钠,1% 苯酚,1mol/L 碳酸钠- 溴水试剂(取 1mol/L 碳酸钠水溶液 100ml 加饱和溴水 15ml 混匀),显色剂(临用新配):取

0.2mol/L 氢氧化钠 80ml 加 1% 苯酚 10ml 混匀,再加入 1mol/L 碳酸钠- 溴水试剂 10ml 混匀。所用试剂均为分析纯。

### 2 方法和结果

#### 2.1 标准曲线的制备和稳定性试验

精密称取 105℃干燥至恒重的对乙酰氨基酚对照品 2.5g,热水溶于 250ml 量瓶中,冷却加水至刻度,得 10mg·ml<sup>-1</sup> 标准贮备液,分别精取上液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0 和 8.0ml 置 100ml 量瓶中,加水至刻度,配成 50, 100, 200, 300, 400, 600 和 800 $\mu$ g/ml 标准液。取洁净干燥具塞和刻度的 10ml 试管,分别精取上述系列标准液 1.0ml 加 4mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 4.0ml,振摇均匀,轻轻盖上塞子,水浴煮沸 1h,冷却加水至刻度。精取上液各 1.0ml,再分置 10ml 具塞刻度试管中,加 0.2mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液 1 滴,精加显色剂 9.0ml,摇匀,静置 40min,于 7520 型紫外-