

# HPLC法测定硝酸舍他康唑阴道片的有关物质<sup>Δ</sup>

周祥富<sup>1\*</sup>, 王康俊<sup>2#</sup> (1. 三亚市人民医院药学部, 海南 三亚 572000; 2. 海南省药品检验所, 海口 570216)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2144-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.43

**摘要** 目的: 建立测定硝酸舍他康唑阴道片有关物质的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil BDS C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.5% 醋酸铵溶液-乙腈-甲醇 (15:42.5:42.5, V/V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 220 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 20 μl。结果: 硝酸舍他康唑阴道片中有关物质能达到较好的分离; 硝酸舍他康唑检测质量浓度线性范围为 12.24~28.56 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<1%; 加样回收率为 99.38%~99.80%, RSD=0.14% ( $n=9$ )。结论: 该方法准确、可靠、灵敏度高、专属性强, 可用于硝酸舍他康唑阴道片的有关物质测定。

**关键词** 硝酸舍他康唑阴道片; 有关物质; 高效液相色谱法

## Determination of the Related Substances in Sertaconazole Nitrate Vaginal Tablet by HPLC

ZHOU Xiangfu<sup>1</sup>, WANG Kangjun<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacy, the People's Hospital of Sanya City, Hainan Sanya 572000, China; 2. Hainan Institute for Drug Control, Haikou 570216, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for determination of the related substances in Sertaconazole nitrate vaginal tablet. METHODS: HPLC was performed on the column of Hypersil BDS C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase of 0.5% Ammonium acetate solution-acetonitrile-methanol (15:42.5:42.5, V/V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 220 nm, column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 20 μl. RESULTS: The related substances in Sertaconazole nitrate vaginal tablet can be well separated; the liner range of sertaconazole nitrate was 12.24-28.56 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 99.38%-99.80% (RSD=0.14%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is accurate and reliable with high sensitivity and strong specificity, and can be used for the related substances in Sertaconazole nitrate vaginal tablet.

**KEYWORDS** Sertaconazole nitrate vaginal tablet; Related substances; HPLC

硝酸舍他康唑化学名为 7-氯-3-[1-(2,4-二氯苯基)-2-(1-氢咪唑-1-基)乙氧甲基]苯并噻吩的硝酸盐, 是一种新型广谱、高效的唑类抗真菌药, 其分子中有高度亲脂片段, 对酵母菌、皮肤癣菌和机会真菌, 特别是对念珠菌属, 有很强的抗菌活性及良好的安全性, 可维持皮肤滞留及较低的系统吸收。这些使它成为较理想的外用药, 尤其适用于阴道念珠菌病的治疗<sup>[1-3]</sup>。

目前, 国内外关于硝酸舍他康唑的有关物质测定方法主要有薄层色谱 (TLC) 法<sup>[4-5]</sup>、高效液相色谱 (HPLC) 法<sup>[6-7]</sup>。其中, 《欧洲药典》6.0 版<sup>[8]</sup>和《英国药典》2009 年版<sup>[9]</sup>收录了硝酸舍他康唑原料药的有关物质 HPLC 测定方法, 但将上述方法用于其阴道片的有关物质测定时, 主峰峰形差、理论板数低。为此, 本试验建立了硝酸舍他康唑阴道片有关物质测定的 HPLC 法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-2010CHT 型 HPLC 仪, 包括 LC-10ATVP 泵、SPD-10AVP 紫外检测器、进样阀、LC-Solution 工作站 (日本 Shimadzu 公司); BP211D 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); SY-720 型超声仪 (上海宁商超声仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

硝酸舍他康唑阴道片 (批号: 08122501、08122502、08122503, 规格: 0.3 g/片)、硝酸舍他康唑对照品 (批号: 20081022, 纯度: 99.83%)、混合辅料均由海南全星制药有限公司提供; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 醋酸铵为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法与结果<sup>[8]</sup>

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil BDS C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.5% 醋酸铵溶液-乙腈-甲醇 (15:42.5:42.5, V/V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25 ℃; 进样量: 20 μl。

三七皂苷 R<sub>1</sub> 及人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的含量 [J]. 中国药物

Δ 基金项目: 海南省自然科学基金资助项目 (No. 813273)

\* 副主任药师。研究方向: 药品质量。电话: 0898-88265606。

E-mail: zhouxiangfu138@163.com

# 通信作者: 副主任药师。研究方向: 药品质量和药品标准。电话: 0898-66832940。E-mail: wangkangjun222@126.com

应用与监测, 2015, 12(5): 268。

[16] 杨辉, 劳广耀, 唐德智. HPLC 法测定复方黄根颗粒中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub> 含量 [J]. 中国药师, 2015, 18(1): 55。

(收稿日期: 2015-12-21 修回日期: 2016-03-15)

(编辑: 刘 柳)

## 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取样品细粉适量(约相当于硝酸舍他康唑 20 mg),置于 100 ml 量瓶中,加流动相适量,超声(功率:720 W,频率:40 kHz,下同)处理使硝酸舍他康唑溶解,并加流动相定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.2 自身对照溶液 精密量取“2.2.1”项下 1 ml 供试品溶液,置于 100 ml 量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得自身对照溶液。

2.2.3 对照品溶液 精密称取硝酸舍他康唑对照品 10.5 mg,置于 50 ml 量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得对照品溶液。

2.2.4 阴性对照溶液 按硝酸舍他康唑阴道片处方及制备工艺制备不含硝酸舍他康唑的阴性样品适量,再按“2.2.1”项下方法制备阴性对照溶液。

## 2.3 系统适用性和专属性试验

2.3.1 系统适用性试验 取“2.2”项下供试品溶液、自身对照溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。结果,各相邻杂质峰的分度均 $>1.5$ ,以硝酸舍他康唑峰计理论板数 $>2000$ 。

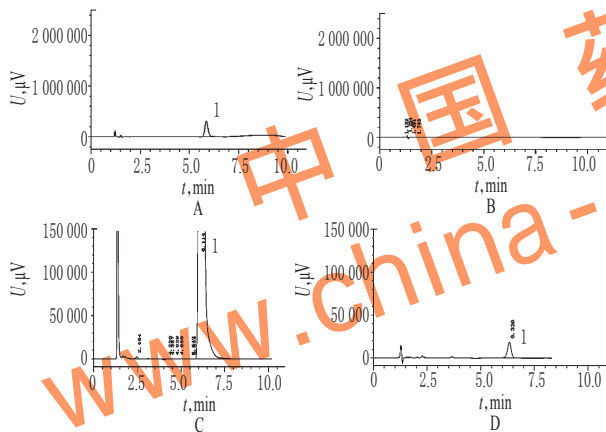


图 1 系统适用性高效液相色谱图

A.对照品;B.阴性对照;C.供试品;D.自身对照;1.硝酸舍他康唑

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.negative control; C.test sample; D.self control; 1.sertaconazole nitrate

2.3.2 专属性试验 精密称取样品(批号:08122501)细粉适量(约相当于硝酸舍他康唑 20 mg),共 5 份,分别置于 100 ml 量瓶中。其中 3 份分别加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 2 ml、0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 ml 和 30% 的过氧化氢溶液 2 ml,放置 16 h 后(第 1 份用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调至中性,第 2 份用 0.1 mol/L 盐酸溶液调至中性),加流动相定容,摇匀;另 2 份分别置于水浴中加热破坏 2 h 和置于 4 500 lx 光照下放置 8 h 后,加流动相稀释至刻度,摇匀。以上 5 份经破坏的样品溶液滤过后,取续滤液 20  $\mu$ l,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图 2。结果,本品在强酸、强碱、高温、氧化、光照条件下,均被破坏产生降解产物,而产生的降解产物均能与主峰较好地分离,表明

该色谱条件能有效检出硝酸舍他康唑阴道片的降解产物,可用于硝酸舍他康唑阴道片有关物质的测定。

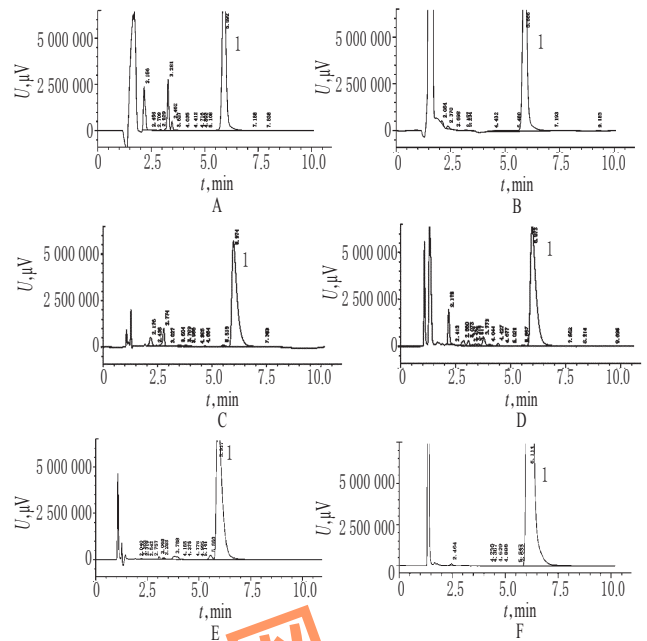


图 2 专属性高效液相色谱图

A.酸破坏样品;B.碱破坏样品;C.高温破坏样品;D.氧化破坏样品;E.光照破坏样品;F.未破坏样品;1.硝酸舍他康唑

Fig 2 HPLC chromatograms of specificity test

A.sample destroyed with acid; B.sample destroyed with alkali; C.sample destroyed with high temperature; D.sample destroyed with oxidation; E.sample destroyed with light; F.sample with no destroyed; 1.sertaconazole nitrate

## 2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.3”项下对照品溶液 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加流动相定容,摇匀,按“2.1”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以硝酸舍他康唑质量浓度( $x, \mu\text{g/ml}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=81617x-9011.8$ ( $r=0.9999$ )。结果表明,硝酸舍他康唑检测质量浓度线性范围为 12.24~28.56  $\mu\text{g/ml}$ 。

## 2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.3”项下对照品溶液适量,逐级稀释,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,在信噪比分别为 10 和 3 时计算得定量限和检测限分别为 0.408 ng 和 0.135 ng。

## 2.6 精密度试验

取“2.2.3”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定 6 次,记录峰面积。结果,硝酸舍他康唑峰面积的 RSD=0.21% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取按“2.2.1”项下方法制备的供试品溶液(批号:08122501)适量,分别于 25  $^{\circ}\text{C}$  下放置 0、2、4、6、8 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,硝酸舍他康唑峰面积的 RSD=0.93% ( $n=5$ ),表明供试品溶液在 8 h 内较稳定。

## 2.8 重复性试验

取批号为08122501的样品细粉适量(约相当于硝酸舍他康唑20 mg),精密称定,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,平行制备6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算硝酸舍他康唑和有关物质的含量。结果,硝酸舍他康唑含量的RSD=0.12%(n=6),最大单杂含量的RSD=0.7%(n=6),总杂含量的RSD=0.4%(n=6),表明本方法重复性良好。

### 2.9 加样回收率试验

分别精密称取已知含量的样品(批号:08122501)细粉适量(约相当于硝酸舍他康唑10 mg),共9份,分别置于50 ml量瓶中,按80%、100%、120%的比例精密加入硝酸舍他康唑对照品各3份,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
10.013 5	8.072 0	18.036 8	99.51		
10.020 2	8.216 4	18.212 5	99.76		
10.012 6	8.141 1	18.091 6	99.38		
10.012 5	10.151 2	20.124 6	99.61		
10.022 7	10.191 5	20.185 1	99.71	99.66	0.14
10.011 5	10.068 2	20.059 6	99.80		
10.064 7	12.160 3	22.191 8	99.67		
10.005 7	12.201 3	22.182 0	99.75		
10.014 3	12.142 4	22.131 7	99.75		

### 2.10 样品有关物质测定

样品有关物质的测定采用自身对照法,即取样品细粉适量(约相当于硝酸舍他康唑20 mg),置于100 ml量瓶中,加流动相适量,超声处理使硝酸舍他康唑溶解并用流动相定容,摇匀,滤过,即得供试品溶液;再精密量取上述供试品溶液1 ml,置于100 ml量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得对照溶液。分别取上述两种溶液各20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图到主成分保留时间的3倍。供试品溶液色谱中如有杂质峰,单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的0.2%,各杂质峰面积之和不得大于对照溶液主峰面积的1.0%。3批样品有关物质测定结果见表2。

表2 样品有关物质测定结果(n=2)

Tab 2 Results of related substances of samples(n=2)

有关物质	批号		
	08122501	08122502	08122503
最大单杂,%	0.04	0.07	0.04
总杂,%	0.17	0.18	0.19

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

笔者曾分别比较了以乙腈-0.15%磷酸二氢钠溶液(37:63,V/V)为流动相和以0.5%醋酸铵溶液-乙腈-甲醇(15:42.5:42.5,V/V/V)为流动相进样时的主峰峰形、理论板数及分离度。结果显示,以后者为流动相时,主峰保留时间适中,峰形良好,主峰与相邻杂质峰分离度、理论板数均较好。故选择后者为本试验的流动相。

### 3.2 检测波长的选择

笔者曾选用二极管阵列检测器对供试品溶液进行全波长扫描,结果发现各杂质在220 nm波长处均有较大吸收,且灵敏度较高。故选择220 nm作为本试验的检测波长。

### 3.3 色谱柱的选择

笔者通过试验发现,供试品溶液在不同品牌及同一品牌不同型号的C<sub>18</sub>色谱柱上的出峰顺序和相对保留时间存在较大差异。为了更准确地控制主峰的出峰时间,笔者对色谱柱进行了筛选,而当色谱柱为Hypersil BDS C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm,5 μm)时,各杂质峰分离度均符合测定要求。故选择该色谱柱为本试验的色谱柱。

综上所述,本方法准确、可靠、灵敏度高、专属性强,可用于硝酸舍他康唑阴道片的有关物质测定。

### 参考文献

- [1] Croxtall JD, Plosker GL. Sertaconazole: a review of its use in the management of superficial mycoses in dermatology and gynaecology[J]. *Drugs*, 2009, 69(3): 339.
- [2] 刘军, 刘维达, 沈永年, 等. 硝酸舍他康唑栓剂体内药理学实验研究[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2005, 19(7): 398.
- [3] Palacin C, Tarragó C, Ortiz JA. Sertaconazole: pharmacology of a gynecological antifungal agent[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2000, 71(Suppl 1): S37.
- [4] 国家药品监督管理局. 标准(试行)YBH00462003[S]. 2003.
- [5] 国家药品监督管理局. 标准(试行)YBH00472003[S]. 2003.
- [6] European pharmacopoeia committee. *European Pharmacopoeia*: 6.0[S]. 2008: 2 873-2 874.
- [7] The UK health and social security. *British pharmacopoeia: volume I & II* [S]. 2009: 1-2.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 59.

(收稿日期: 2015-11-03 修回日期: 2016-04-14)

(编辑: 周 箐)

《中国药房》杂志——《国际药学文摘》(IPA)收录期刊, 欢迎投稿、订阅