

## 替硝唑螺内酯乳膏稳定性研究

彭贤东, 龙凤, 唐志立, 谢军 (南充市中心医院药学部, 四川南充 637000)

**[摘要]** 目的 研究替硝唑螺内酯乳膏的稳定性。方法 采用 HPLC 法同时测定替硝唑螺内酯乳膏中替硝唑和螺内酯的含量, 用加速试验和长期试验预测替硝唑螺内酯乳膏的有效期。结果 替硝唑和螺内酯的含量均随时间延长逐渐下降, 经过加速试验, 6 个月替硝唑下降了 4.37%, 螺内酯下降了 3.10%; 经过长期试验, 12 个月替硝唑下降了 5.27%, 螺内酯下降了 3.73%, 含量与其他各项指标均符合规定。结论 替硝唑螺内酯乳膏的有效期可定为 12 个月。

**[关键词]** 替硝唑螺内酯乳膏; 稳定性; 高效液相色谱法; 加速试验; 长期试验

**[中图分类号]** R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)04-0290-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.04.014

## Study on stability of tinidazole and spironolactone cream

PENG Xian-dong, LONG Feng, TANG Zhi-li, XIE Jun (Department of Pharmacy, Nanchong Municipal Central Hospital, Nanchong 637000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the stability of tinidazole and spironolactone cream. **Methods** The content of tinidazole and spironolactone in cream were determined simultaneously by HPLC, and the period of validity of tinidazole spironolactone cream was predicted by accelerated test and long term test predictive validity. **Results** The content of tinidazole and spironolactone were decreasing gradually with the increasing of prolonging of time. After accelerated test, 6 months of tinidazole dropped 4.37%. spironolactone dropped 3.10%. After long term test, 12 months of tinidazole dropped 5.27%, spironolactone dropped 3.73%. Content and other indicators were in line with the provision. **Conclusion** The validity period of tinidazole and spironolactone was 12 months.

**[Key words]** tinidazole and spironolactone cream; stability; HPLC; accelerated test; long term test

替硝唑螺内酯乳膏是南充市中心医院的自制制剂, 其主要成分为替硝唑和螺内酯, 具有抗菌、抑制皮脂分泌等作用, 用于治疗寻常痤疮疗效显著<sup>[1]</sup>, 已获得四川省医疗机构制剂临床研究批件(批件号: ZJL2011004)。制剂稳定性是保证药物安全有效的重要方面, 为此, 笔者采用 HPLC 法同时测定替硝唑螺内酯乳膏中替硝唑和螺内酯的含量, 并对其稳定性进行科学考察, 预测其室温条件下的有效期。

### 1 仪器与试药

**1.1 仪器** Gilson 712 高效液相色谱仪(法国 Gilson 公司, 包括 303 型高压泵、HM 型紫外检测器、Gilson 714 色谱工作站); UV-860 紫外-可见分光光度计(法国康强公司); BP211D 分析天平(德国赛多利斯股份公司); JY-800HK 调温调湿箱(上海巨也仪器设备有限公司)。

**1.2 试药** 替硝唑螺内酯乳膏(南充市中心医院

自制, 规格: 每盒 20 g, 含替硝唑 400 mg 与螺内酯 60 mg, 批号 110328、110329、110330); 替硝唑对照品(含量 99.8%, 批号 100336-200703)、螺内酯对照品(含量 99.8%, 批号 100193-199601)均由中国药品生物制品检定所提供; 乙腈为色谱纯; 水为注射用水; 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液** 精密称取替硝唑对照品 80.22 mg、螺内酯对照品 12.14 mg 一同置于 50 ml 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得含替硝唑、螺内酯成分的对照品储备液; 精密量取上述储备液 5 ml, 置于 50 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 ml 含替硝唑 160.44 μg 和螺内酯 24.28 μg 的溶液, 作为对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 取本品 2 g(约含替硝唑 40 mg, 螺内酯 6 mg), 精密称定, 置 100 ml 量瓶中, 加流动相适量, 于 60 °C 水浴中加热并时时振摇, 使乳膏充分分散, 替硝唑和螺内酯溶解, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 置冰浴中冷却 2 h, 取出后迅速滤过, 取续滤

**[基金项目]** 四川省南充市科技局应用技术与开发资金项目(N2008-SF015)。

**[作者简介]** 彭贤东(1974-), 男, 副主任药师。Tel: (0817) 8184015, E-mail: pxd0905@163.com。

液放至室温,精密量取 10 ml,置 25 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

**2.1.3 阴性对照溶液** 按处方比例制备不含替硝唑和螺内酯的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。

**2.2 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱:Hyper-sil ODS2-C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(50:50);流速:1.0 ml/min;检测波长:238 nm;进样量:20 μl;柱温:30℃。替硝唑、螺内酯的保留时间分别为 2.9 min 和 7.8 min,理论板数分别为 3 600 和 6 000,分离度为 8.93,替硝唑和螺内酯与相邻峰的分离度均大于 3.0,在检测波长 238 nm 处,处方中其他辅料不干扰替硝唑和螺内酯的含量测定。阴性对照溶液、对照品溶液和供试品溶液色谱图见图 1。

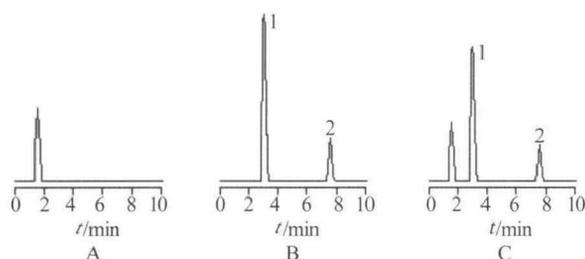


图 1 高效液相色谱图

A-阴性对照;B-对照品;C-供试品;1-替硝唑;2-螺内酯

**2.3 线性关系考察** 精密量取“2.1.1”项下对照品储备液,加流动相分别稀释成含替硝唑、螺内酯质量浓度分别为 40.11、80.22、120.33、160.44、240.66、320.88、481.32 和 6.07、12.14、18.21、24.28、36.42、48.56、72.84 μg/ml 的溶液,进样 20 μl,依法测定。以质量浓度(C)为横坐标,峰面积积分值(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得替硝唑、螺内酯回归方程分别为  $A = 1\ 815.5C + 17\ 799.5$  ( $r = 0.999\ 7, n = 7$ ) 和  $A = 6\ 246.7C + 1\ 340.8$  ( $r = 0.999\ 9, n = 7$ )。结果表明,替硝唑、螺内酯检测质量浓度的线性范围分别为 40.11 ~ 481.32 μg/ml 和 6.07 ~ 72.84 μg/ml。

**2.4 精密度实验** 精密量取替硝唑质量浓度分别为 120.33、160.44、240.66 μg/ml(同时螺内酯质量浓度分别为 18.21、24.28、36.42 μg/ml)的对照品溶液,按 2.2 项下色谱条件依法测定,分别于同日内测定 5 次,计算日内 RSD;每日测定 1 次,连续测定 5 d 计算日间 RSD。结果,3 种浓度峰面积积分值的日内 RSD 替硝唑分别为 0.83%、0.91%、0.58%,平均 RSD 为 0.77%;螺内酯分别为 1.13%、0.94%、0.79%,平均 RSD 为 0.95%;日间 RSD 替硝唑分别

为 0.92%、0.89%、0.75%,平均 RSD 为 0.85%;螺内酯分别为 1.12%、0.97%、0.93%,平均 RSD 为 1.01%,表明本方法精密度良好。

**2.5 重复性实验** 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,对同一批样品(批号 110328)重复操作 6 次,按“2.2”项下色谱条件,测定其含量。结果,替硝唑、螺内酯含量的 RSD 分别为 0.72% 和 0.67%,表明本方法重复性较好。

**2.6 稳定性实验** 取批号 110328 样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,于 0、2、4、6、8、16、24 h 各进样 20 μl,替硝唑和螺内酯峰面积积分值的 RSD 分别为 0.82% 和 0.93%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.7 回收率实验** 按样品处方量精密称取替硝唑、螺内酯对照品适量(标示量的 80%、100%、120%),置于 100 ml 量瓶中,分别加入处方比例量的空白乳膏基质,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件测定峰面积,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=9)

药品名称	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
替硝唑	32.12	32.47	101.09	100.72	0.70
	31.89	31.85	99.87		
	32.03	32.57	101.69		
	40.07	40.27	100.50		
	40.12	40.54	101.05		
	40.02	39.89	99.68		
	47.92	48.04	100.25		
螺内酯	48.13	48.53	100.83	101.27	1.00
	48.07	48.81	101.54		
	4.79	4.86	101.46		
	4.83	4.93	102.07		
	4.76	4.84	101.68		
	6.22	6.21	99.84		
	6.06	6.18	101.98		
	6.14	6.12	99.67		
	7.16	7.35	102.65		
	7.27	7.32	100.69		
7.21	7.31	101.39			

**2.8 样品含量测定** 取 3 批样品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件测定,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(n=3,%)

批号	替硝唑		螺内酯	
	标示量	RSD	标示量	RSD
110328	100.2	0.74	100.8	0.65
110329	102.7	0.64	104.2	0.71
110330	102.4	0.77	101.2	0.61

### 3 稳定性试验

**3.1 耐热试验** 取本乳膏 50 g 分装入密闭容器内,在 55 ℃ 的恒温箱中放置 6 h,取出观察外观,结果 3 批乳膏膏体均无变化且无油、水分离现象。

**3.2 耐寒试验** 取本乳膏 50 g 分装入密闭容器内,分别于 5 ℃ 的冷藏室及 -15 ℃ 冷冻箱保持 24 h 后取出,待恢复至室温后观察外观,结果 3 批乳膏膏体未变粗糙且无分层现象。

**3.3 加速试验与长期试验** 根据《中国药典》2010 年版二部附录 XIX C 原料药与药物制剂稳定性试验指导原则<sup>[2]</sup>,进行加速试验与长期试验。

**3.3.1 考察项目和方法** 性状:目测。均匀性:目测。分层现象:在室温状态下,以离心法进行测定,

将乳膏 10 g,装入带刻度的离心管内,于转速 2 500 r/min 的离心机离心 30 min,不应有分层现象。含量测定:按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下色谱条件测定。微生物限度:按《中国药典》2010 年版二部附录 XI J 微生物限度检查法检查。

**3.3.2 加速试验** 取供试品 3 批(批号 110328、110329、110330),市售包装(规格每盒 20 g,含替硝唑 400 mg 与螺内酯 60 mg),在温度(30 ± 2)℃,相对湿度(65 ± 5)% 的条件下放置 6 个月。在第 1、2、3、6 个月末分别取样一次,按“3.1”项下考察项目和方法进行检测。考察结果见表 3。

表 3 替硝唑螺内酯乳膏加速试验结果温度[(30 ± 2)℃,RH(65 ± 5)%]

批号	时间(月)	性状	均匀性	分层现象	含量(%)		微生物限度
					替硝唑	螺内酯	
110328	0	类白色	符合规定	符合规定	100.2	100.8	符合规定
	1	类白色	符合规定	符合规定	99.6	100.4	符合规定
	2	类白色	符合规定	符合规定	98.9	99.9	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	98.0	99.3	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	96.1	97.9	符合规定
110329	0	类白色	符合规定	符合规定	102.7	104.2	符合规定
	1	类白色	符合规定	符合规定	102.0	103.7	符合规定
	2	类白色	符合规定	符合规定	101.2	103.1	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	100.5	102.7	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	98.1	100.9	符合规定
110330	0	类白色	符合规定	符合规定	102.4	101.2	符合规定
	1	类白色	符合规定	符合规定	101.8	100.8	符合规定
	2	类白色	符合规定	符合规定	101.2	100.1	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	100.3	99.5	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	98.0	98.1	符合规定

加速试验的结果显示,替硝唑螺内酯乳膏(市售包装)经过 6 个月加速试验,替硝唑和螺内酯的含量随时间延长逐渐下降,6 个月替硝唑下降了 4.37%,螺内酯下降了 3.10%,其他各项指标均无明显变化。对比影响因素试验,各影响因素对替硝唑螺内酯乳膏并没有显著的作用。说明替硝唑螺内酯乳膏(市售包装)较稳定。

**3.3.3 长期试验** 取供试品 3 批(批号 110328、110329、110330),市售包装(规格每盒 20 g,含替硝唑 400 mg 与螺内酯 60 mg),在温度(25 ± 2)℃、相对湿度(60 ± 10)% 的条件下放置 12 个月,每 3 个月取样一次,分别于 0、3、6、9、12 个月取样,按“3.1”项下考察项目和方法进行检测。将数据与 0 月数据比较,以确定有效期。考察结果见表 4。

长期试验的结果显示,替硝唑螺内酯乳膏(市

售包装)经过 12 个月的长期试验,替硝唑和螺内酯的含量随时间延长逐渐下降,12 个月替硝唑下降了 5.27%,螺内酯下降了 3.73%,其他各项指标均无明显变化。说明经过 12 个月的长期试验替硝唑和螺内酯的含量与其他各项指标均符合规定。故可将该乳膏剂的有效期定为 12 个月。

#### 4 讨论

有关替硝唑或螺内酯的含量测定方法已有较多文献报道<sup>[3-6]</sup>,本研究建立的高效液相色谱法同时测定替硝唑螺内酯乳膏中替硝唑和螺内酯含量的方法尚未见报道。预实验中,经过在 200 ~ 400 nm 进行紫外光谱扫描,由光谱显示,替硝唑最大吸收波长在 310 nm 附近,螺内酯最大吸收波长为 238 nm,

(下转第 299 页)

- 丹皮酚含量分析[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2189.
- [4] 段彬, 魏玉辉. HPLC法同时测定六味地黄丸中3种成分含量[J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(11): 66.
- [5] 张硕, 高海青, 张岫美. 丹皮酚抑制大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤脑组织细胞间黏附分子-1和血管细胞黏附分子-1的表达[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(1): 5.
- [6] 冯巧巧, 周勇, 张岫美, 等. 丹皮酚对麻醉犬冠脉结扎致心肌梗死的保护作用[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(5): 320.
- [7] 孙国平, 沈玉仙, 张玲玲, 等. 丹皮酚对HepA荷瘤小鼠免疫调节和抑瘤作用研究[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(2): 160.
- [8] 刘春云, 武延章, 周大喜. 丹皮酚抗菌作用的研究[J]. 生物学杂志, 2000, 17(3): 23.
- [收稿日期] 2013-05-27  
[修回日期] 2013-06-13

(上接第292页)

表4 替硝唑螺内酯乳膏长期试验结果[(25±2)℃、RH(60±10)%]

批号	时间(月)	性状	均匀性	分层现象	含量(%)		微生物限度
					替硝唑	螺内酯	
110328	0	类白色	符合规定	符合规定	100.2	100.8	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	99.0	100.1	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	97.6	99.2	符合规定
	9	类白色	符合规定	符合规定	96.1	98.5	符合规定
	12	类白色	符合规定	符合规定	94.9	97.3	符合规定
110329	0	类白色	符合规定	符合规定	102.7	104.2	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	101.4	103.3	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	100.0	102.1	符合规定
	9	类白色	符合规定	符合规定	98.6	101.3	符合规定
	12	类白色	符合规定	符合规定	97.1	100.2	符合规定
110330	0	类白色	符合规定	符合规定	102.4	101.2	符合规定
	3	类白色	符合规定	符合规定	101.2	100.5	符合规定
	6	类白色	符合规定	符合规定	99.8	99.5	符合规定
	9	类白色	符合规定	符合规定	98.7	98.6	符合规定
	12	类白色	符合规定	符合规定	97.5	97.5	符合规定

因处方中替硝唑和螺内酯的含量比为20:3,而替硝唑在238 nm波长处的吸收也较强,故选择了238 nm作为检测波长。在选择流动相时,考察甲醇-水(70:30)为流动相,结果替硝唑出峰时间太快且与杂质峰不能较好分离。以0.02 mol/L磷酸氢二铵-乙腈(45:55)为流动相,结果出峰时间较快,替硝唑峰、螺内酯峰的对称性不佳。而选用0.05 mol/L磷酸二氢钾(用磷酸调pH至3.5)-乙腈(50:50)、乙腈-水(50:50)为流动相比较,所得的峰形基本相同,替硝唑峰、螺内酯峰与其他峰均能较好分离。最终选择乙腈-水(50:50)为流动相及溶剂,替硝唑峰、螺内酯峰与其他峰分离度大于3.0,且不拖尾,保留时间恒定,既减少了系统干扰,又降低了对色谱柱的损害。

稳定性试验表明,不同放置温度,该乳膏的性状、均匀性、分层现象、微生物限度均无明显变化,替硝唑和螺内酯的含量均随时间延长逐渐下降,从表3可以看出,经过加速试验,6个月替硝唑下降了4.37%,螺内酯下降了3.10%;从表4可以看出,经过长期试验,12个月替硝唑下降了5.27%,螺内酯

下降了3.73%,替硝唑和螺内酯含量变化均在标准规定的范围内,考虑温度可能是影响替硝唑螺内酯乳膏稳定性的主要因素之一,故可将该乳膏剂的有效期定为12个月。该乳膏中替硝唑的降解产物2-甲基-5-硝基咪唑和螺内酯的降解产物坎利酮量的变化有待进一步研究。

#### 【参考文献】

- [1] 彭贤东,唐志立,龙凤,等. 替硝唑螺内酯乳膏治疗寻常痤疮62例[J]. 中国药业, 2010, 19(17): 77.
- [2] 中国药典2010版. 二部[S]. 附录, 2010: 199.
- [3] 张雅雅,何标. 复方替硝唑霜的制备及含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(22): 1908.
- [4] 王菊荣,王月军,叶勇,等. HPLC法测定复方药物微乳膏中螺内酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(12): 1883.
- [5] 李超,张勉. HPLC法测定螺内酯片的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(17): 1610.
- [6] 彭贤东,唐志立,龙凤,等. 替硝唑螺内酯乳膏的制备及质量控制[J]. 中国药业, 2010, 19(5): 34.

[收稿日期] 2012-07-16

[修回日期] 2012-08-13