

· 论著 ·

复方酮康唑软膏的制备与稳定性考察

陶春¹, 吴博^{1,2}, 黄爱文¹, 王天宇^{1,3}, 王佳琳^{1,2}, 宋洪涛¹ (1.福州总医院药学科, 福建福州 350025; 2.福建医科大学药学院, 福建福州 350108; 3.厦门大学医学院, 福建厦门 360000)

[摘要] **目的** 制备复方酮康唑软膏并考察其稳定性。**方法** 以酮康唑、莫匹罗星和糠酸莫米松为主药,以聚乙二醇(PEG)为基质制备软膏;利用影响因素试验考察软膏中药物的稳定性。**结果** PEG400和PEG3350的比例为2:1时,软膏的黏度最佳,易于涂展。制成软膏后,高温下糠酸莫米松和莫匹罗星稳定性良好;酮康唑有少许分解,加入0.5%的抗坏血酸棕榈酸酯(L-A)后,酮康唑的含量明显提高。加速试验发现,放置6个月后软膏的颜色无变化,3种药物的含量均在98%以上。**结论** 本实验成功制备了新型复方酮康唑软膏,药物稳定性良好。

[关键词] 酮康唑;莫匹罗星;糠酸莫米松;软膏;稳定性

[中图分类号] R944 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)06-0535-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.013

Development and stability test of compound ketoconazole ointment

TAO Chun¹, WU Bo^{1,2}, HUANG Aiwen¹, WANG Tianyu^{1,3}, WANG Jialin^{1,2}, SONG Hongtao¹ (1.Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, China; 2.School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China; 3.Medical College, Xiamen University, Xiamen 360000, China)

[Abstract] **Objective** To prepare compound ketoconazole ointment and perform the stability study. **Methods** Ketoconazole, mupirocin and mometasone furoate were used as active pharmaceutical ingredients (API). PEG mixture was used as matrix to prepare the ointment. Stability of the API in the ointment was evaluated by the stress tests. **Results** The optimal ratio of PEG400 to PEG3350 for the ointment matrix was 2:1. Mometasone furoate and mupirocin in the ointment were stable to the high temperature (40 °C) while ketoconazole had some degradation. The stability of the API was improved by addition of 0.5% of L-A. During the accelerate test, the ointment had no color change and the API percentages were above 98%. **Conclusion** The novel compound ketoconazole ointment was successfully prepared and the formulation stability was excellent.

[Key words] ketoconazole; mupirocin; mometasone furoate; ointment; stability

头癣、体癣、手癣等皮肤病多由浅部真菌感染引起,发病率可占全部皮肤病的25%左右。市售的复方酮康唑乳膏包含酮康唑、丙酸氯倍他索和硫酸新霉素,是治疗浅部真菌感染的常用药物。其中,酮康唑是最常用的抗真菌药物,具有价格不贵、抗菌谱广、抗真菌活性强的优势。丙酸氯倍他索为局部外用糖皮质激素类药物,用于抗炎、抗过敏、止痒等,但其副作用也较多,可产生红斑、灼热、瘙痒等刺激症状,长期大面积用药可导致高血糖、高尿糖等^[1],12岁以下儿童禁止使用。另外,硫酸新霉素为抗菌药物,用于抑制合并细菌感染,但较为突出的问题是细

菌易产生耐药性^[2]。市售复方酮康唑乳膏的不良反应用于患者带来了安全隐患,也会使得患者的用药依从性降低,而细菌耐药性的出现将导致反复感染,难以根治。针对上述问题,合理选择药物组成,从而安全、有效地治疗浅部真菌感染,具有重要的临床意义。

糠酸莫米松属于强效糖皮质激素,在强的松龙的结构基础上进行修饰后,其亲脂性增强。外用于皮肤后,糠酸莫米松主要分布于角质层,可缓慢释放,且吸收入血的量极少,因此可以强化局部疗效,减少不良反应,2岁以上的儿童可以使用^[3,4]。与丙酸氯倍他索相比,糠酸莫米松在加强疗效的同时,其副作用的发生率没有相应增加,烧灼感、瘙痒、刺痛和皮肤萎缩等不良反应极为少见。

莫匹罗星是新型抗菌药物,由荧光假单胞菌分解产生,通过结合细菌异亮氨酸转RNA合成酶,阻断异亮氨酸的供给,导致细菌死亡。对皮肤及软组

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2010J01218)

[作者简介] 陶春,博士,主管药师,研究方向:药物新剂型与制剂新技术, Tel: (0591)22859972, Email: pleciestao@163.com

[通讯作者] 宋洪涛,博士,博士生导师,研究方向:药物新剂型与制剂新技术, Tel: (0591)22859459, Email: sohoto@vip.163.com

织感染,中国医师协会皮肤科分会形成了共识,认为莫匹罗星是理想的抗菌药物,具有广谱、高效、不易发生过敏等优势,且相比传统的外用抗菌药物(如新霉素软膏或红霉素软膏),不易发生交叉耐药和多重耐药^[5]。

因此,在市售复方制剂的基础上,本实验拟选用酮康唑、莫匹罗星、糠酸莫米松为主药制备软膏,并研究这3种成分的稳定性的。

1 试剂与仪器

酮康唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100294-201203,含量99.4%),莫匹罗星对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130568-200501,含量94.2%),糠酸莫米松对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100930-201201,含量99.9%),酮康唑原料药(武汉鑫佳灵,批号:20130405),莫匹罗星原料药(武汉鑫佳灵,批号:20130301),糠酸莫米松原料药(武汉鑫佳灵,批号:20130228),聚乙二醇400(PEG400,中国医药对外贸易公司),聚乙二醇3350(PEG3350,中国医药对外贸易公司),抗坏血酸棕榈酸酯(L-A,上海倍卓生物科技有限公司),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪(Agilent 1200,美国 Agilent 公司),稳定性试验箱(SHH-SDT,重庆永生实验仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 含量测定方法 色谱柱为 Intersil ODS-3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-pH 5.5 的磷酸盐缓冲液(65:35),流速:1 ml/min,检测波长:248 nm,柱温:30 °C,进样量:10 μl。

专属性考察发现,酮康唑、莫匹罗星和糠酸莫米松分离良好,所用辅料均对药物测定无干扰(图1)。

以浓度 $C(\mu\text{g}/\text{ml})$ 为横坐标,以峰面积 A 为纵坐标进行线性回归,得回归方程。酮康唑的回归方程为 $A = 12.280C + 27.94$, $r = 0.9995$,在 40~400 μg/ml 范围内线性关系良好。莫匹罗星的回归方程为 $A = 2.295C + 10.20$, $r = 0.9995$,在 40~400 μg/ml 范围内线性关系良好。糠酸莫米松的回归方程为 $A = 28.240C + 1.871$, $r = 0.9995$,在 2~20 μg/ml 范围内线性关系良好。日内、日间精密度的 RSD 值均小于 2%,低、中、高浓度的平均回收率在 95%~105% 范围内,且 RSD 值小于 1.5%,表明精密密度、回收率符合要求。

2.2 溶解度 取过量的酮康唑、莫匹罗星和糠酸莫

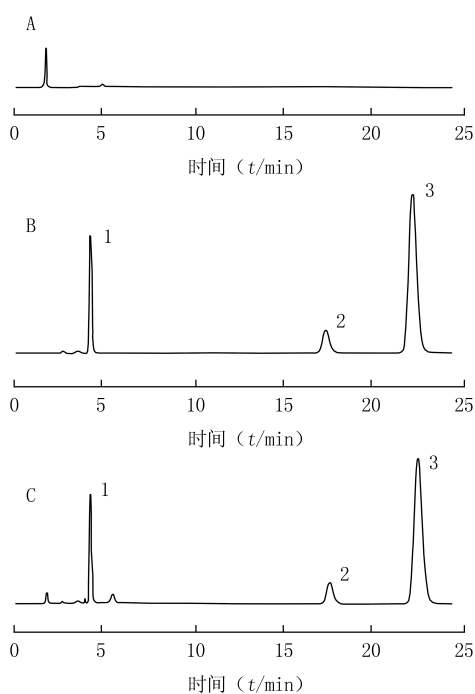


图1 复方酮康唑软膏 HPLC 图

A. 空白辅料; B. 对照品溶液; C. 供试品溶液;

1. 莫匹罗星; 2. 糠酸莫米松; 3. 酮康唑

米松原料药,分别加入水、磷酸盐缓冲液(pH 2.0、3.0、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、甘油、丙二醇、PEG400 中制成过饱和溶液,于 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、100 r/min 恒温水浴中机械振荡,24 h 后取样,经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液进样,测定续滤液中药物的含量,计算其在各溶剂中的溶解度,结果如表 1 所示。

酮康唑在水中的溶解度较小,为 $(6.42 \pm 0.32) \mu\text{g}/\text{ml}$,随着 pH 的增大,酮康唑的溶解度逐渐减小,说明其在酸性环境下有较好的溶解度,而在 pH 6.0 及以上时检测不到酮康唑。在甘油、丙二醇和 PEG400 中,酮康唑溶解度较高,尤其是在 PEG400 中,溶解度为 $(30427.89 \pm 1.88) \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.3 软膏的制备 酮康唑、莫匹罗星和糠酸莫米松在含水介质中的溶解度差异较大,而在 PEG400 中均有较高的溶解度,因此参考市售莫匹罗星软膏(百多邦)的处方,采用 PEG3350 和 PEG400 为基质制备软膏。

称取一定量的 PEG400,加入一定量的酮康唑、莫匹罗星、糠酸莫米松超声溶解,再加至已在 85°C 条件下熔融的 PEG3350 中,在 40°C 水浴条件下搅拌 5~10 min,冷却后即得。调整 PEG400:PEG3350 比例为 2:1、3:2、1:1 制备软膏,观察其外观和涂展性能。软膏呈淡黄色,色泽亮丽,两

表 1 3 种药物在不同介质中的溶解度试验结果($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)

介质	酮康唑	莫匹罗星	糠酸莫米松
蒸馏水	6.42±0.32	450.00±1.11	—
PBS(pH 值)			
2.0	9 883.23±0.22	120.00±1.04	—
3.0	1 997.67±1.24	230.00±1.88	—
4.0	534.67±1.87	640.00±0.96	—
4.5	171.43±0.23	680.00±0.84	—
5.0	79.04±0.78	750.00±0.74	—
6.0	—	1 510.00±1.62	—
7.0	—	6 480.00±1.22	—
8.0	—	12 830.00±1.96	—
9.0	—	20 700.00±0.98	—
甘油	1 228.36±1.46	1 150.00±1.66	150.89±1.08
丙二醇	5 447.75±0.56	184 080.00±1.12	854.87±1.22
PEG 400	30 427.89±1.88	168 290.00±1.44	9 057.67±0.98

注：“—”表示未测得药物浓度

者比例为 3 : 2、1 : 1 时, 软膏黏度增大, 不易涂展; 两者比例为 2 : 1 时, 软膏稠度适宜, 易于均匀涂抹, 因此选择 PEG400 与 PEG3350 之比为 2 : 1 制备软膏(表 2)。

表 2 不同比例 PEG 对复方酮康唑软膏外观的影响

PEG400 : PEG3350	软膏外观
2 : 1	淡黄色、色泽亮丽、稠度适宜
3 : 2	淡黄色、色泽亮丽、黏稠
1 : 1	淡黄色、色泽亮丽、较硬

2.4 影响因素试验 将软膏置瓶中(去盖), 放入药物稳定性检查仪, 进行高温试验(40 ℃), 于 0、5、10 d 取样进行检测, 以 0 d 时的含量为 100% 计算。如图 2A 所示, 在 40 ℃ 下第 10 天时, 酮康唑、莫匹罗星和糠酸莫米松的含量分别为 94.65%、97.94% 和 99.99%。

为提高软膏中酮康唑的稳定性, 加入 L-A 作为抗氧化剂。调整软膏中 L-A 的含量为 0.3%、0.5% 和 0.8% 进行高温试验(40 ℃)。结果发现, 采用 0.3% 的 L-A 时, 酮康唑含量提升不明显, 10 d 时为 94.88%, 而将 L-A 的比例增加至 0.5% 时, 10 d 时酮康唑剩余 98.98%, 稳定性得到显著改善; 进一步增加 L-A 的比例, 酮康唑含量增加不明显(图 2B)。加入 0.5% 的 L-A 后, 10 d 时软膏中的莫匹罗星含量略有提高, 为 98.16% (图 2C)。糠酸莫米松在各处方中均有较高的含量(图 2D)。因此, 确定 L-A 的用量为 0.5%。

以含 0.5% L-A 的软膏进行高温(40 ℃)、高湿

[相对湿度(90±5%)]和强光照试验[照度(4 500±500) lx], 如图 3 所示, 3 种药物都具有良好的稳定性, 10 d 时的含量均在 98% 以上。

2.5 加速试验 以优选处方制备 3 批软膏, 加入铝塑管中, 置药物稳定性检查仪中进行加速试验, 温度为(30±2) ℃、相对湿度为(65±5%), 放置 6 个月, 于 0、1、2、3、6 个月末取样观察软膏外观, 同时测定药物的含量。在试验期间, 软膏颜色无变化, 为淡黄色, 药物含量均在 98% 以上, 见表 3。

表 3 复方酮康唑软膏加速试验结果

批号	时间 (t/mon)	外观	含量(%)		
			莫匹罗星	糠酸莫米松	酮康唑
150622	0	淡黄色	100.0	100.0	100.0
	1	淡黄色	99.8	98.3	100.1
	2	淡黄色	100.2	98.7	99.9
	3	淡黄色	99.4	99.4	99.7
	6	淡黄色	99.7	98.8	98.4
	150623	0	淡黄色	100.0	100.0
1		淡黄色	100.0	100.2	100.2
2		淡黄色	100.3	99.3	100.2
3		淡黄色	99.8	100.0	100.5
6		淡黄色	100.1	99.9	100.1
150624		0	淡黄色	100.0	100.0
	1	淡黄色	99.4	98.5	100.3
	2	淡黄色	100.3	98.9	99.0
	3	淡黄色	100.0	98.6	98.5
	6	淡黄色	99.3	98.8	99.9

3 讨论

市售的复方酮康唑乳膏是治疗皮肤浅部真菌感染的常用药, 但其中的糖皮质激素丙酸氯倍他索易

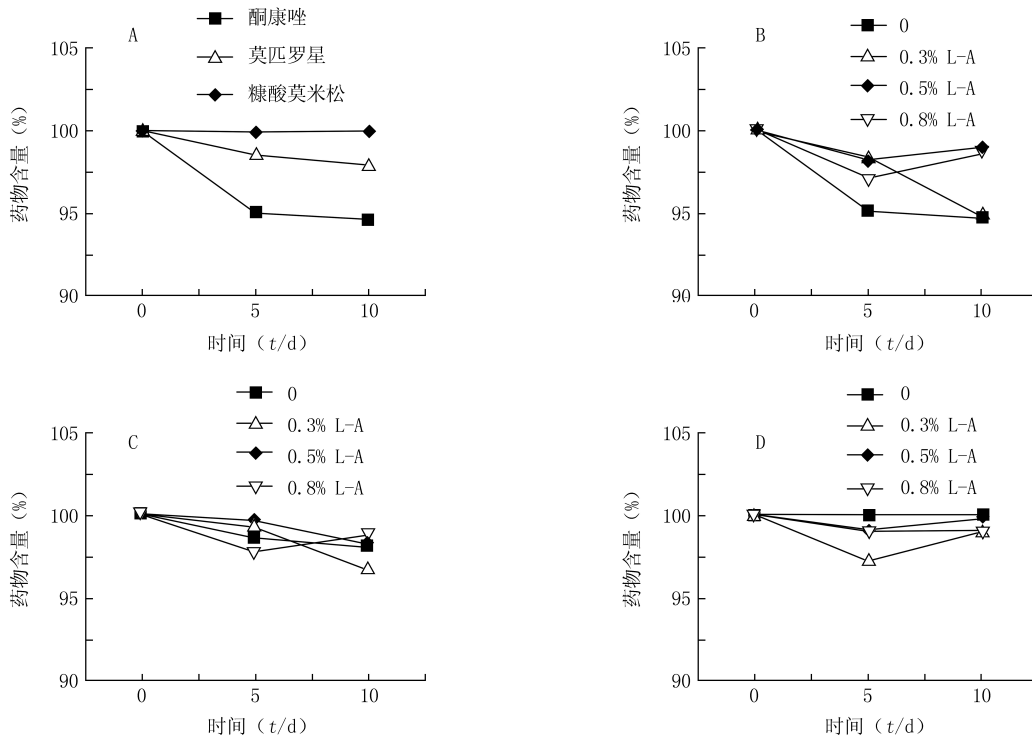


图2 含不同比例抗坏血酸棕榈酸酯(L-A)的复方酮康唑软膏在40℃高温下试验结果

A. 软膏; B. 含不同比例 L-A 软膏中的酮康唑; C. 含不同比例 L-A 软膏中的莫匹罗星; D. 含不同比例 L-A 软膏中的糠酸莫米松

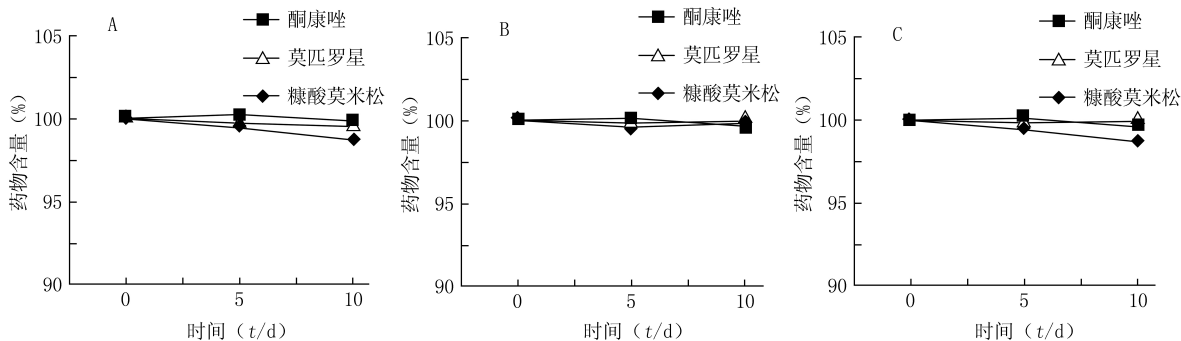


图3 含0.5%抗坏血酸棕榈酸酯(L-A)的复方酮康唑软膏影响因素试验

A. 高温试验(40℃); B. 高湿试验[相对湿度(90±5)%]; C. 强光照射试验[照度(4500±500)lx]

产生红斑、灼热、瘙痒等皮肤刺激,显著降低患者的依从性。另外,皮肤浅部真菌感染常合并有细菌感染,而细菌对抗菌药物硫酸新霉素有较高的耐药率,可导致反复感染,治愈率低。因此,为改善市售产品的有效性和安全性,本研究将丙酸氯倍他索替换为副作用较少的糠酸莫米松,将硫酸新霉素替换为抗菌作用更强的莫匹罗星,再结合酮康唑,制备新型复方酮康唑软膏。

经溶解度测定发现,3种药物成分酮康唑、莫匹罗星、糠酸莫米松在PEG400中均有较好的溶解性,因此参考市售莫匹罗星软膏的处方,采用PEG400和PEG3350制备软膏。PEG400和PEG3350的比

例为2:1时,软膏呈淡黄色,色泽亮丽,黏度最佳,易于均匀涂展,且相比市售产品,该软膏的处方简单、制备方便^[6]。

高温下软膏中酮康唑的含量降低。因酮康唑的结构中含有酰胺基和醚基,易氧化导致药物颜色改变,软膏中加入抗氧化剂L-A后酮康唑的稳定性明显提高。在选择抗氧化剂时,笔者考察了L-A、特丁基对苯二酚、维生素E和无水亚硫酸钠。无水亚硫酸钠是酮康唑乳膏中常用的抗氧化剂^[7,8],但其在PEG400中不溶,在软膏中发生沉淀。以特丁基对苯二酚或维生素E为抗氧化剂配制的软膏,放置2d后外观变

(下转第550页)

3 讨论

3.1 硝酸铝显色法及氯化铝显色法原理 前者原理为:亚硝酸钠作为还原剂将黄酮还原后,再加 Al^{3+} 进行络合反应,最后加 NaOH 提供碱性环境,使黄酮 C 环开裂生成查尔酮从而显示橙红色。后者原理为: Al^{3+} 在酸性条件下先与黄酮的 3-羟基-4-羰基、5-羟基-4-羰基和 B 环邻二酚羟基发生络合反应,形成的络合物会让紫外吸收红移至 420 nm,作为另一种鉴别方法^[12]。本品用比色法进行含量测定,参考文献[13,14],硝酸铝、氢氧化钠浓度及用量对总黄酮含量影响较大,故对其进行显色条件优化。

实验结果表明,本品在 420 nm 处没有显示与对照品一致的最大吸收,可能是由于本品黄酮类成分缺乏 3-羟基、B 环邻二酚羟基等结构,无法与 Al^{3+} 发生络合反应,不能用氯化铝显色法测定。

3.2 稳定性考察 试验考察供试液 60 min 内的稳定性,结果明显色反应后的供试液在 60 min 后总黄酮含量开始下降,故进行总黄酮含量测定时,应当在显色反应之后立即测定。

综上所述,本实验优选出的硝酸铝显色法用于测定复方茵陈合剂中总黄酮含量,具有简便、快速、准确可靠等优点,适用于院内制剂的快速检定。

【参考文献】

- [1] 牛筛龙,张兴耐,吴之琳,等.茵陈总黄酮对急性肝损伤大鼠的保护作用[J].医药导报,2016,35(3):246-248.
- [2] 张玲,李俊,黄艳,等.野菊花总黄酮对酒精致急性

肝损伤小鼠的保护作用[J].安徽医药,2011,15(10):1197-1200.

- [3] 曹锦花.茵陈的化学成分和药理作用研究进展[J].沈阳药科大学学报,2013,30(6):489-494.
- [4] 王丽红,宋洋,肖艳,等.茵陈化学成分的分离与鉴定[J].中国药房,2011,22(11):1020-1022.
- [5] 章林平,孙倩,王威,等.茵陈有效成分的药理作用及其临床应用的研究进展[J].抗感染药学,2014,11(1):28-31.
- [6] 曾棋平,曹毅祥,黄丽珊,等.复方首乌藤合剂的薄层鉴别和总黄酮的含量测定[J].药学实践杂志,2016,34(5):424-427.
- [7] 曾令军,柯小温,宋洪涛,白子草总黄酮及总多糖降血糖有效部位的提取工艺研究[J].药学实践杂志,2016,34(6):516-521.
- [8] 邢桂珍,陶卿,崔玉梅,等.UV法和HPLC法测定甘草总黄酮混悬液中总黄酮和查尔酮含量[J].安徽医药,2014,18(2):2251-2255.
- [9] Chen ML, Hu W, Zhang C, et al. Capillary electrophoresis method for the determination of flavonoids[J]. Yao Xue Xue Bao, 2011, 46(8): 883-889.
- [10] 韦瑀龙,黄小鸥,蓝晓庆.固本补肾口服液总黄酮含量测定方法研究[J].实用药物与临床,2016,19(10):1287-1289.
- [11] 匡海学.中药化学[M].2版.北京:中国中医药出版社,2003:138-139.
- [12] 任珊珊,包保全,毛婷,等.中药中总黄酮的含量测定方法研究进展[J].北方药学,2015,12(3):112-115.
- [13] 马雯芳,邓慧连,蔡毅,等.冰糖草总黄酮含量测定及显色方法优化[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):112-115.
- [14] 郑媛媛,李辰,封士兰,等.油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J].光谱学与光谱分析,2011,31(2):547-550.

【收稿日期】 2017-05-11 【修回日期】 2017-07-31

【本文编辑】 李睿旻

(上接第 538 页)

为粉红色,提示酮康唑发生氧化。L-A 是油溶性的抗氧化剂,在软膏基质中溶解良好,含 L-A 的软膏性状稳定,颜色无明显变化,且经过影响因素试验和加速试验测试,含 0.5% L-A 软膏中的 3 种药物在高温、高湿和强光照下的含量均在 98% 以上。

以上结果表明,自制的复方酮康唑软膏具有优良的稳定性,下一步将研究其经皮渗透和药效学。

【参考文献】

- [1] 刘淮,刘景楨.外用糖皮质激素的适应症与副作用[J].皮肤病与性病,2016,38(1):19-20.
- [2] 孟甄,金建玲,刘玉庆,等.细菌耐药性的诱导与消除[J].中国药理学通报,2003,19(9):1047-1051.

[3] 中国中西医结合学会皮肤性病学会环境与职业性皮肤病学组.糠酸莫米松乳膏临床应用专家共识[J].中国中西医结合皮肤性病杂志,2017,16(1):88-90.

[4] 谢阳,万苗坚.皮肤科常用糖皮质激素类药物的类型及适应症[J].中国医学文摘(皮肤科学),2015,32(3):283-288.

[5] 中国医师协会皮肤科分会.皮肤及软组织感染诊断和治疗共识[J].临床皮肤科杂志,2009,38(12):810-812.

[6] 朱雷.萘替芬酮康唑乳膏配方筛选及工艺[J].国外医药(抗生素分册),2016,37(3):128-130.

[7] 邢东志,邢晗,宝玲.复方酮康唑软膏的处方设计试验[J].中国现代药物应用,2010,04(16):165-165.

[8] 周月红,张继明,沈鸿.复方酮康唑乳膏中稳定剂的选择[J].医药导报,2004,23(5):331-332.

【收稿日期】 2017-03-08 【修回日期】 2017-07-07

【本文编辑】 李睿旻