

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)07-0108-03  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.07.020



# 高效液相色谱-二极管阵列检测器法同时测定脚气水中硝酸益康唑、硝酸咪康唑及盐酸特比萘芬含量

朱丽丽<sup>1</sup>, 钱亚萍<sup>1</sup>, 寿予瑾<sup>2</sup>

(1. 浙江省嘉兴市食品药品与产品质量检验检测研究院, 浙江 嘉兴 314001; 2. 浙江药科职业大学药学院, 浙江 宁波 315100)

**摘要:**目的 建立同时测定脚气水中硝酸益康唑、硝酸咪康唑和盐酸特比萘芬含量的高效液相色谱-二极管阵列检测器法。方法 色谱柱为 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.025 mol/L 磷酸二氢钾溶液(88:12, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 220 nm, 柱温为 25 °C, 进样量为 10 μL。结果 硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬的质量浓度分别在 0.40~4.00 μg/mL、1.60~16.00 μg/mL、2.00~20.00 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r = 0.9999, n = 6$ ); 精密度、稳定性试验的 RSD 均小于 1%; 平均加样回收率分别为 100.03%, 99.62%, 99.63%, RSD 分别为 2.14%, 2.84%, 2.36% ( $n = 6$ )。脚气水中上述 3 种成分的含量分别为 1.02, 5.90, 6.15 mg/mL。结论 所建立的方法操作简便、灵敏度高、结果准确, 可用于同时测定脚气水中硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬的含量。

**关键词:** 脚气水; 高效液相色谱-二极管阵列检测器法; 硝酸益康唑; 硝酸咪康唑; 盐酸特比萘芬; 含量测定

## Simultaneous Determination of Econazole Nitrate, Miconazole Nitrate and Terbinafine Hydrochloride in Commercial Athlete's Foot Lotion by HPLC - DAD

ZHU Lili<sup>1</sup>, QIAN Yaping<sup>1</sup>, SHOU Yujin<sup>2</sup>

(1. Jiaxing Institute for Food, Drug and Product Quality Control, Jiaxing, Zhejiang 314001, China; 2. College of Pharmacy, Zhejiang Pharmaceutical University, Ningbo, Zhejiang 315100, China)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography-diode array detector method for simultaneous determination of econazole nitrate, miconazole nitrate, and terbinafine hydrochloride in Athlete's Foot Lotion. **Methods** The chromatographic column was Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.025 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (88:12, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 220 nm, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of econazole nitrate, miconazole nitrate, and terbinafine hydrochloride were 0.40 - 4.00 μg/mL, 1.60 - 16.00 μg/mL, and 2.00 - 20.00 μg/mL ( $r = 0.9999, n = 6$ ), respectively. The RSDs of precision and stability tests were both lower than 1%. The average recoveries of econazole nitrate, miconazole nitrate, and terbinafine hydrochloride were 100.03%, 99.62%, and 99.63%, with RSDs of 2.14%, 2.84%, and 2.36% ( $n = 6$ ), respectively. The contents of the above three components in Athlete's Foot Lotion were 1.02, 5.90, and 6.15 mg/mL, respectively. **Conclusion** The established method is simple, highly sensitive, and accurate, which can be used for the simultaneous determination of econazole nitrate, miconazole nitrate, and terbinafine hydrochloride in Athlete's Foot Lotion.

**Key words:** Athlete's Foot Lotion; HPLC - DAD; econazole nitrate; miconazole nitrate; terbinafine hydrochloride; content determination

足癣常被称为脚气,是一种由皮肤癣菌引起的足部皮肤真菌感染,具有一定传染性<sup>[1]</sup>。脚气水的主要成分为酒精、水杨酸、苦参等,为夸大宣传效果,高价出售,牟取不义之财,部分制假者非法添加化学抗真菌药(如硝酸益康唑)。硝酸益康唑和硝酸咪康唑均为咪唑类抗真菌药,盐酸特比萘芬为丙烯胺类抗真菌药,这3种药物均有广谱抗真菌作用,但在未告知情况下使用可能引发严重的健康风险,如过敏反应、毒性反应、严重肝肾功能损害等。故本研究中参考文献[2-14],建立了同时测定脚气水中硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特

比萘芬含量的高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)法,以进一步提高药品监督管理部门的查处效率,遏制制售假药违法行为。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

LC-40D型HPLC仪(日本Shimadzu公司),配有LC-40D型输液泵,SIL-40型自动进样机,SPD-M40型DAD(检测波长范围190~350 nm),DGU-405型脱气装置,LabSolutions系列工作站,CTO-40S型色谱柱柱温箱;XS105DU型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公

第一作者:朱丽丽,女,大学本科,研究方向为药物分析,(电子信箱)595718940@qq.com。

司,精度为0.01 mg)。

## 1.2 试药

硝酸益康唑对照品(批号为100214-202005,含量为99.7%),硝酸咪康唑对照品(批号为100213-201406,含量为99.8%),盐酸特比萘芬对照品(批号为100214-202103,含量为99.6%),均购自中国食品药品检定研究院;脚气水(由浙江省桐乡市市场监督管理局提供);磷酸二氢钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号为20221121);甲醇(德国Merck公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-0.025 mol/L磷酸二氢钾溶液(88:12, V/V);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 220 nm;柱温: 25 °C;进样量: 10 μL。

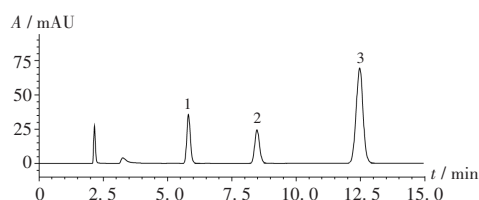
### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取硝酸益康唑对照品、硝酸咪康唑对照品、盐酸特比萘芬对照品各10 mg,精密称定,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,即得对照品贮备液。分别精密量取硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬对照品贮备液1, 4, 5 mL,置同一25 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,过滤,精密量取续滤液5 mL,置50 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬质量浓度分别为4, 16, 20 μg/mL的混合对照品溶液I。精密量取混合对照品溶液I 3 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬质量浓度分别为1.2, 4.8, 6.0 μg/mL的混合对照品溶液II。精密量取对照品贮备液各1 mL,置同一10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,过滤,再精密量取续滤液1 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬质量浓度均为10 μg/mL的混合对照品溶液III。

供试品溶液: 精密量取样品1 mL,置25 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得供试品贮备液。精密量取供试品贮备液5 mL,置20 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,过滤,再精密量取续滤液1 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得供试品溶液。

### 2.3 方法学考察

系统适用性试验: 取2.2项下混合对照品溶液III适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬色谱峰的保留时间分别为5.810, 8.476, 12.470 min,理论板数分别为7699, 9029, 9864,拖尾因子分别为1.148, 1.126, 1.001,分离度均大于1.5,基线分离良好。色谱图见图1。



1. 硝酸益康唑 2. 硝酸咪康唑 3. 盐酸特比萘芬

图1 高效液相色谱图

1. Econazole nitrate 2. Miconazole nitrate 3. Terbinafine hydrochloride

Fig. 1 HPLC chromatogram

线性关系考察: 分别精密量取2.2项下混合对照品溶液I 1, 2, 3, 4, 5, 10 mL,分别置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得系列质量浓度的混合对照品溶液。取适量,按2.1项下色谱条件进样测定,以各待测成分的质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1,表明3种成分在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

表1 方法学考察结果

Tab. 1 Results of the methodology investigation

成分	回归方程	r	线性范围 (μg/mL)	检测限 (ng)	定量限 (ng)	RSD(%)	
						精密度 试验	稳定性 试验
硝酸益康唑	$Y=35720X-717.54$	0.9999	0.40~4.00	0.03	0.11	0.208	0.205
硝酸咪康唑	$Y=31150X-3092.60$	0.9999	1.60~16.00	0.05	0.18	0.095	0.058
盐酸特比萘芬	$Y=132839X-14460.00$	0.9999	2.00~20.00	0.02	0.06	0.072	0.053

检测限与定量限确定: 精密量取2.2项下混合对照品溶液I 0.10 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,精密吸取10 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为3:1时的质量浓度为检测限,以S/N为10:1时的质量浓度为定量限。结果见表1,表明方法灵敏度高。

精密度试验: 取2.2项下混合对照品溶液I适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果见表1,表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 精密量取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温放置0, 3, 6, 9, 12 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果见表1,表明供试品溶液室温放置12 h内稳定性良好。

加样回收试验: 精密量取已知含量的样品适量,分别精密加入混合对照品溶液I,在线性范围内加流动相制成80%, 100%, 120%浓度的加样回收试验溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表2,表明方法准确度良好。

### 2.4 样品含量测定

取2.2项下混合对照品溶液II、供试品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量。结果样品中硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐

表2 加样回收试验结果(n=6)  
Tab. 2 Results of the recovery test (n=6)

成分	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
硝酸益康唑	97.00	86.937 6	185.945 9	102.31	100.03	2.14
	97.00	86.937 6	185.979 7	102.35		
	97.00	108.672 0	203.019 6	97.56		
	97.00	108.672 0	203.005 4	97.55		
	97.00	130.406 4	227.675 3	100.21		
	97.00	130.406 4	227.673 1	100.20		
硝酸咪康唑	589.00	345.228 2	945.372 3	103.23	99.62	2.84
	589.00	345.228 2	945.339 0	103.22		
	589.00	431.535 2	1 008.890 5	97.30		
	589.00	431.535 2	1 008.960 8	97.32		
	589.00	517.842 2	1 098.206 4	98.33		
	589.00	517.842 2	1 098.245 7	98.34		
盐酸特比萘芬	594.00	426.288 0	1 030.877 1	102.48	99.63	2.36
	594.00	426.288 0	1 030.875	102.48		
	594.00	532.860 0	1 112.431 1	97.29		
	594.00	532.860 0	1 112.434 1	97.29		
	594.00	639.432 0	1 227.772 0	99.11		
	594.00	639.432 0	1 227.773 5	99.12		

酸特比萘芬的含量分别为 1.02, 5.90, 6.15 mg / mL。

### 3 讨论

#### 3.1 指标性成分选择

前期试验中,对比供试品溶液与混合对照品溶液的 HPLC 图发现,其中 3 个色谱峰的保留时间相同。进一步对比供试品溶液与混合对照品溶液中这 3 个色谱峰的紫外光谱图发现,两者主峰的紫外光谱图一致。故确定供试品溶液中含有硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬,故以这 3 种成分作为定量检测成分。

#### 3.2 色谱条件选择

检测波长:为准确测定各成分的含量,预试验中采用了 DAD 对各待测成分色谱峰进行扫描。结果硝酸咪康唑、硝酸益康唑在 200 nm 波长处有最大吸收,在 210~225 nm 波长范围内有较大的宽幅吸收;盐酸特比萘芬在 222, 280 nm 波长处均有最大吸收。为避免甲醇截止波长影响测定结果,特别是甲醇在 205 nm 波长处的吸收会干扰分析过程,故检测波长选择 220 nm。

流动相:脚气水是成分较复杂的液体制剂,除硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬 3 种主要成分外,还含有其他可能对测定结果产生影响的成分(如水杨酸等)。故预试验中考察了不同流动相体系(乙腈-水、甲醇-水)对色谱峰峰形的影响。结果流动相为甲醇-水时,硝酸益康唑、硝酸咪康唑的色谱峰峰形良好,但盐酸特比萘芬的色谱峰前沿严重,分离效果仍未达到预期。查阅文献发现,缓冲盐可调节流动相的 pH,确保分

析成分在反相高效液相色谱条件下处于解离状态<sup>[3]</sup>。当样品的 pH 超出常规硅胶基质色谱柱的耐受范围(pH 为 2~8)时,缓冲盐可减轻其对色谱柱的损害,并改善色谱峰峰形,确保保留时间稳定。故进一步考察了不同缓冲盐(磷酸氢二钾、磷酸二氢铵)和不同流动相比例(60:40、80:20、85:15、88:12, V/V)对色谱峰峰形的影响。结果流动相为甲醇-0.025 mol/L 磷酸二氢钾溶液(88:12, V/V)时,3 种待测成分的分离度好、出峰快、峰形好,且其余成分无干扰。故流动相选择甲醇-0.025 mol/L 磷酸二氢钾溶液(88:12, V/V)。

#### 3.3 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、灵敏度高、结果准确,可用于同时测定脚气水中硝酸益康唑、硝酸咪康唑、盐酸特比萘芬的含量。

#### 参考文献

- [1] 毛玉洁. 脚气到底是什么“气”,如此难缠如何治[J]. 祝您健康, 2022(6):56-57.
- [2] 凌映茹,朱铭洪,霍宗利,等. 高效液相色谱法测定消毒乳膏中非法添加的抗真菌药物[J]. 中国消毒学杂志, 2023, 40(2):103-105.
- [3] 韩剑,贾志伟,刘健. HPLC 法测定复方硝酸咪康唑乳膏中三种组分的含量[J]. 甘肃医药, 2023, 42(4):343-345.
- [4] 周天天,张营,谈仲川,等. 高效液相色谱法测定曲咪新乳膏中硝酸咪康唑有关物质[J]. 中南药学, 2022, 20(12):2893-2897.
- [5] 余震,安延鸣. HPLC 法测定派瑞松乳膏中曲安奈德和硝酸益康唑的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(4):284-287.
- [6] 张慧文,林玲,关倩明. 梯度洗脱 HPLC 法测定硝酸益康唑的有关物质[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5):911-914.
- [7] 刘百义. 派瑞松乳膏中曲安奈德和硝酸益康唑的含量测定[J]. 中国药业, 2009, 18(7):26-27.
- [8] 黄文涛,程璐. HPLC 法同时测定复方酮康唑凝胶中酮康唑、硝酸咪康唑的含量[J]. 中国药师, 2014, 17(2):310-311.
- [9] 张璐,马秋冉,董玲玲,等. 高效液相色谱法同时测定兽用制剂中氟苯尼考、糠酸莫米松、盐酸特比萘芬的含量[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(9):34-40.
- [10] 李彦博,王超,赵晓冬,等. 高效液相色谱法测定功效化妆品中盐酸特比萘芬[J]. 日用化学工业, 2012, 42(3):234-236.
- [11] 汪平,武惠斌,聂红梅. 盐酸特比萘芬乳膏中盐酸特比萘芬的含量测定[J]. 求医问药:下半月, 2012, 10(5):678-679.
- [12] 刘辉,郭苗苗,徐丹,等. HPLC 法同时测定特益乳膏中盐酸特比萘芬和硝酸益康唑的含量[J]. 中国药师, 2011, 14(7):1002-1004.
- [13] 黄春青,曹桂红,祝晶,等. HPLC 法测定复方珊瑚姜溶液尿素咪康唑软膏复合制剂中硝酸咪康唑含量[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2019, 37(6):63-67.
- [14] 马若群,丁苏苏,徐兴亚,等. HPLC 法测定双唑乳膏中克霉唑与硝酸益康唑的含量[J]. 天津药学, 2013, 25(6):6-8.

(收稿日期:2025-03-04;修回日期:2026-01-07)