

· 研究报告 ·

复方醋酸氯己定软膏质量标准研究

胡文军¹, 邓朝晖¹, 李爱红¹, 慈薇² (1. 广州军区联勤部药品仪器检验所, 广东 广州 510500; 2. 南方医科大学药学院, 广东 广州 510500)

[摘要] 目的 提高复方醋酸氯己定软膏的质量控制标准。方法 增补处方中薄荷脑、樟脑的薄层色谱(TLC)法鉴别; 建立高效液相色谱法同时测定处方中醋酸氯己定、盐酸丁卡因含量的方法。结果 薄荷脑、樟脑薄层色谱斑点清晰, 可用于鉴别; 醋酸氯己定在 10.01~160.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性关系良好, 平均回收率为 101.5%, RSD 为 1.8%; 盐酸丁卡因在 10.01~160.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性关系良好, 平均回收率为 100.5%, RSD 为 2.8%。结论 提高后的质量标准可行。

[关键词] 复方醋酸氯己定软膏; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R986

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)03-0258-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.03.017

Quality of control of compound chlorhexidine acetate ointment

HU Wenjun¹, DENG Zhaohui¹, LI Aihong¹, CI Wei² (1. Institute for Drug and Instrument Control, Guangzhou Military Region, Guangzhou 510500, China; 2. School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510500, China)

[Abstract] **Objective** To improve the standard of the quality control of compound chlorhexidine acetate ointment. **Methods** TLC was used to control the quality of menthol crystal and camphor. A method to determine chlorhexidine acetate and cocaine hydrochloride simultaneously by HPLC was established. **Results** The spots of menthol crystal and camphor in TLC were clear. Chlorhexidine acetate and cocaine hydrochloride showed excellent linearity, which were at the range of 10.01-160.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 10.01-160.14 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. The average recoveries were 101.5% (RSD=1.8%) and 100.5% (RSD=2.8%). **Conclusion** The methods were simple, sensitive and with good reproducibility and could be used to control the quality of compound chlorhexidine acetate ointment.

[Key words] compound chlorhexidine acetate ointment; TLC; HPLC

复方醋酸氯己定软膏是《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002年版收载的制剂品种, 具有抗菌、消炎、止痛、止痒的作用, 临床用于皮肤感染及溃疡、冻伤、肛裂、外痔炎症等。其处方包括醋酸氯己定 5 g、盐酸丁卡因 5 g、薄荷脑 5 g、樟脑 5 g、凡士林 980 g, 按制备工艺制成 1 000 g, 即得。但原质量标准仅对方剂中的醋酸氯己定、盐酸丁卡因、薄荷脑进行了理化鉴别, 未对相关主要成分进行含量测定^[1]。按照《中国药典》2010年版的相关要求^[2], 对复方醋酸氯己定软膏质量标准进行了修订和规范。在原标准的基础上, 增加了主药醋酸氯己定、盐酸丁卡因的含量测定方法, 增补了对薄荷脑、樟脑的薄层色谱

鉴别。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); XS105 型分析天平(梅特勒公司)。

1.2 试剂 复方醋酸氯己定软膏(规格 0.5%, 批号 20130419、20130526、20130620, 生产单位: 解放军 152 医院); 醋酸氯己定对照品(批号: 100183-201003, 含量为 96.2%), 盐酸丁卡因对照品(批号: 100456-200301, 含量 100%), 薄荷脑对照品(批号: 110728-200506)、樟脑对照品(批号: 747-200106), 以上对照品均由中国药品生物制品检定所提供; 乙腈(色谱纯, Merck 公司), 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄荷脑的薄层鉴别 取样品 6 g, 加无水乙醇 30 ml, 在水浴上加热使其溶解, 放冷, 置冰浴中约

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题 (13ZJZ19-3)

[作者简介] 胡文军, 博士, 副主任药师. 研究方向: 药物分析. Tel: (020)88698373; E-mail: stars3@sina.com

[通讯作者] 慈薇, 博士, 讲师. 研究方向: 药物分析. Tel: (020) 62789467

30 min, 过滤, 取滤液作为供试品溶液, 同法制成缺薄荷脑的阴性对照溶液。另取薄荷脑对照品适量, 加无水乙醇制成 1 mg/ml 的溶液, 作为薄荷脑对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(85 : 15) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点。阴性对照品色谱中此相应位置无此斑点(见图 1)。结果表明, TLC 鉴别反应专属性良好, 可用于复方醋酸氯己定软膏中薄荷脑的鉴别。

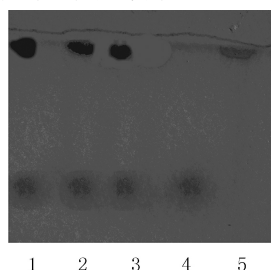


图 1 薄荷脑 TLC 图

1-3. 样品; 4. 薄荷脑对照品; 5. 阴性对照品

2.2 樟脑的薄层鉴别 取样品 10 g, 加无水乙醇 30 ml, 在水浴上加热使其溶解, 放冷, 置冰浴中约 30 min, 过滤, 蒸发至约 1 ml, 作为供试品溶液; 取不含樟脑的阴性对照品 10 g, 照供试品处理方法处理, 作为阴性对照溶液; 另取樟脑对照品适量, 加无水乙醇制成 1 mg/ml 的溶液, 作为樟脑对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述溶液各 10 μ l, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(9 : 2) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 在 100 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显蓝色的斑点, 阴性对照品色谱中此相应位置无斑点(见图 2)。结果表明, TLC 鉴别反应专属性良好, 可用于复方醋酸氯己定软膏中樟脑的鉴别。

2.3 醋酸氯己定、盐酸丁卡因的含量测定^[3-5]

2.3.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 色谱柱: Grace Smart (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 以 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(pH 2.5)-乙腈(65 : 35) 为流动相, 检测波长为 227 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C。理论塔板数按醋酸氯己定峰、盐酸丁卡因峰计算均不低于 2 000。

2.3.2 溶液的制备

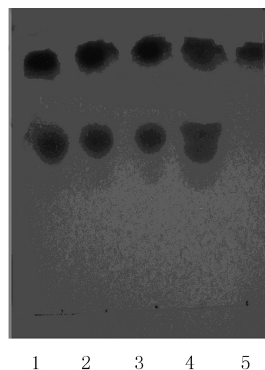


图 2 樟脑 TLC 图

1-3. 样品; 4. 樟脑对照品; 5. 阴性对照品

2.3.2.1 对照品溶液 精密称取醋酸氯己定对照品、盐酸丁卡因对照品适量, 加水溶解并定量稀释, 分别制成浓度为 25 μ g/ml 的醋酸氯己定、盐酸丁卡因二种对照品溶液。

2.3.2.2 供试品溶液 精密称取样品 5 g, 置 50 ml 量瓶中, 加水适量, 加盐酸 3 ml, 水浴加热溶解, 充分振摇, 放冷, 用水定容至刻度, 摇匀, 水浴加热至样品再次溶解, 趁热过滤, 弃去初滤液, 精密量取放冷后的续滤液 5 ml 置 100 ml 容量瓶中, 加水稀释制成 25 μ g/ml 的供试品溶液。

2.3.2.3 阴性对照溶液 依照处方比例, 按供试品溶液制备方法制成不含醋酸氯己定和盐酸丁卡因的阴性对照溶液。

2.3.3 检测波长的考察 分别取“2.3.2.1”中制得的醋酸氯己定对照品溶液和盐酸丁卡因对照品溶液, 照紫外-可见分光光度法(《中华人民共和国药典》二部附录 IV A) 在 200~400 nm 扫描, 结果见图 3。根据紫外光谱图, 拟同时测定醋酸氯己定与盐酸丁卡因, 检测波长为 227 nm。

2.3.4 专属性考察 照“2.3.1”项色谱条件, 分别注入对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μ l 进行测定, 结果表明, 在此色谱条件下, 醋酸氯己定与盐酸丁卡因两组分分离完全, 阴性无干扰。结果见图 4。

2.3.5 线性关系考察 精密称取醋酸氯己定对照品约 0.25 g、盐酸丁卡因对照品约 0.25 g 置 250 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。分别精密量取储备液 0.5、2、4、5、6、7、8 ml 至 50 ml 容量瓶, 加水制成醋酸氯己定浓度为 10.02、40.08、80.17、100.21、120.25、140.29、160.33 μ g/ml, 盐酸丁卡因浓度为 10.01、40.04、80.07、100.09、120.11、140.13、160.14 μ g/ml 的溶液, 按上述测定方法测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线

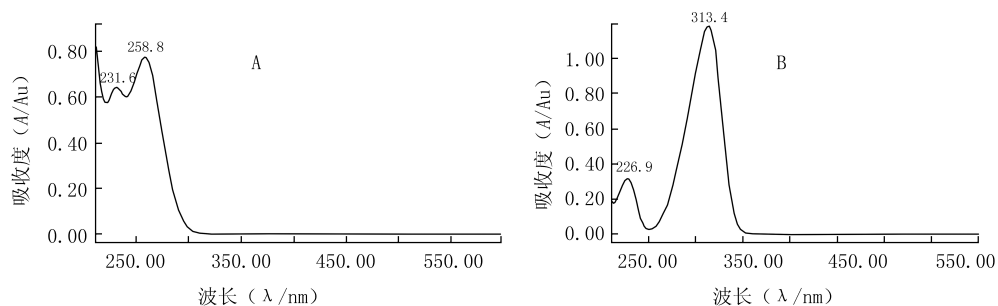


图 3 醋酸氯己定(A)和盐酸丁卡因(B)的紫外-可见光谱图

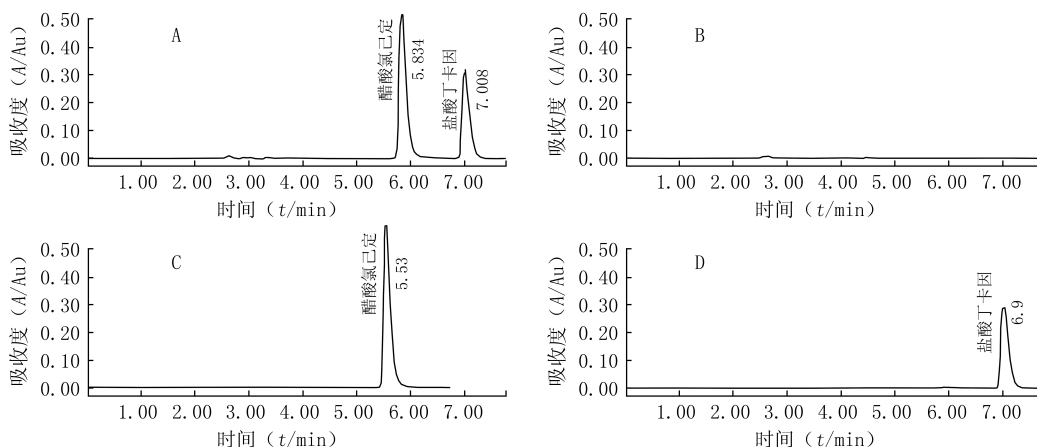


图 4 各样品溶液 HPLC 色谱图

A. 供试品溶液; B. 阴性对照溶液; C. 醋酸氯己定对照品溶液; D. 盐酸丁卡因对照品溶液

性回归,得醋酸氯己定的回归方程为: $A=10\ 679\ C+13\ 738$, $r=0.999\ 9$;盐酸丁卡因的回归方程为: $A=41\ 155\ C-41\ 680$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明,醋酸氯己定在 $10.02\sim 160.33\ \mu\text{g/ml}$ 范围内、盐酸丁卡因在 $10.01\sim 160.14\ \mu\text{g/ml}$ 范围内均有良好的线性关系。

2.3.6 精密度试验 取批号为 20130419 的供试品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。结果显示,理论塔板数按醋酸氯己定峰、盐酸丁卡因峰计算均不低于 2 000。计算醋酸氯己定峰、盐酸丁卡因峰面积,RSD 分别为 0.2%、0.5%。结果表明精密度良好。

2.3.7 重复性试验 精密称取批号为 20130419 的样品适量,按“2.3.2.2”项方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项色谱条件测定,同法操作 6 份。测得醋酸氯己定平均含量为标示量的 97.22%,RSD 为 1.9% ($n=6$);盐酸丁卡因平均含量为标示量的 101.7%,RSD 为 2.6% ($n=6$)。结果表明重复性良好。

2.3.8 回收率试验 按处方比例取空白基质适量,分别加入醋酸氯己定和盐酸丁卡因适量,制成相当于标示量 80%、100%、120% 3 个剂量组的样品溶

液,每个剂量组各精密量取 3 份,照上述色谱条件测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

成分	占标示量百分比 (%)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
醋酸氯己定	80	10.13	10.42	102.82	101.5	1.8
		10.13	10.33	102.03		
		10.13	10.35	102.16		
	100	12.65	12.93	102.20		
		12.65	13.03	103.04		
		12.65	12.78	101.05		
120	15.15	15.08	99.51			
	15.15	15.60	102.91			
	15.15	14.81	97.77			
盐酸丁卡因	80	10.09	9.83	97.44	100.5	2.8
		10.09	10.11	100.23		
		10.09	10.25	101.55		
	100	12.6	13.08	103.75		
		12.6	13.04	103.49		
		12.6	13.09	103.87		
120	15.25	14.82	97.19			
	15.25	15.26	100.01			
	15.25	14.81	97.10			

(下转第 266 页)

Cancer Res, 2014, 16(3): R61.

- [10] Lanitis E, Dangaj D, Hagemann IS, *et al.* Primary human ovarian epithelial cancer cells broadly express HER2 at immunologically-detectable levels[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49829.
- [11] Hapuarachchige S, Kato Y, Artemov D. Bioorthogonal two-component drug delivery in HER2 (+) breast cancer mouse models[J]. Sci Rep, 2016, 6:24298.
- [12] Kulhari H, Pooja D, Shrivastava S, *et al.* Trastuzumab-grafted PAMAM dendrimers for the selective delivery of anti-cancer drugs to HER2-positive breast cancer[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23179.
- [13] 左明辉, 金华君, 黎江, 等. 多靶向 VEGF-EGFR 的 Fc 融合蛋白 EVP1 的构建及其结合特性[J]. 中国肿瘤生物治疗

杂志, 2012, 19(3): 239-246.

- [14] Zhong XS, Matsushita M, Plotkin J, *et al.* Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI3 kinase/AKT/Bcl-XL activation and CD8⁺ T cell-mediated tumor eradication[J]. Mol Ther, 2010, 18(2): 413-420.
- [15] Kenderian SS, Ruella M, Gill S, *et al.* Chimeric antigen receptor T-cell therapy to target hematologic malignancies [J]. Cancer Res, 2014, 74(22): 6383-6389.
- [16] Harris DT, Kranz DM. Adoptive T cell therapies: A comparison of T cell receptors and chimeric antigen receptors [J]. Trends Pharmacol Sci, 2016, 37(3):220-230.

[收稿日期] 2016-04-20 [修回日期] 2016-05-04

[本文编辑] 顾文华

(上接第 260 页)

2.3.9 稳定性试验 取批号为 20130419 的供试品溶液, 分别在 0、3、6、12、24 h 进样, 测定含量, 结果醋酸氯己定平均含量为标示量的 96.72%, RSD 为 1.1%; 盐酸丁卡因平均含量为标示量的 102.1%, RSD 为 1.6%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.10 定量限 精密称取醋酸氯己定对照品适量, 加水稀释制成含醋酸氯己定 0.012 5 μg/ml 的溶液。按信噪比 10:1, 测得复方醋酸氯己定的定量限为 0.012 5 μg/ml。

精密称取盐酸丁卡因对照品适量, 加水稀释制成含盐酸丁卡因 0.025 μg/ml 的溶液。按信噪比 10:1, 测得盐酸丁卡因的定量限为 0.025 μg/ml。

2.3.11 样品含量测定 采用本方法测定 4 批样品, 结果见表 2。

表 2 复方醋酸氯己定软膏样品含量测定结果

批号	醋酸氯己定		盐酸丁卡因	
	占标示量百分比 (%)	RSD (%)	占标示量百分比 (%)	RSD (%)
20130419	90.3	1.1	98.7	0.8
20130526	89.4	0.9	95.1	0.5
20130620	91.4	0.6	97.7	0.4
20150108(新配制)	98.4	0.5	101.3	0.2

2013 年上半年配制的 3 批次样品中醋酸氯己定含量测定结果在 90% 左右, 批号为 20150108 新配制的样品按上述方法进行含量测定, 结果含醋酸氯己定为标示量的 98.4%, 含盐酸丁卡因为标示量

的 101.3%。故分析前 3 批次样品醋酸氯己定含量偏低的原因, 可能是由于样品放置时间较长, 处方中醋酸氯己定不稳定造成的。建议适当缩短制剂的有效期。结果表明, 本方法可用于该样品的含量测定。

3 讨论

3.1 本文拟定了樟脑、薄荷脑的 TLC 鉴别方法, 方法专属性良好, 可用于复方醋酸氯己定软膏中樟脑、薄荷脑的鉴别。

3.2 经方法学验证, 笔者拟定的采用 HPLC 法同时测定醋酸氯己定和盐酸丁卡因含量的方法, 操作简单, 快速可靠, 具有良好的线性关系、回收率和重复性。所建立的方法可用于复方醋酸氯己定软膏中醋酸氯己定和盐酸丁卡因的含量测定。

3.3 含量测定的样品及对照品色谱图可用于醋酸氯己定和盐酸丁卡的专属性鉴别试验, 可列入质量标准中。

【参考文献】

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范 2002 年版[S]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 164.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 29-31.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部消毒技术规范 2008 版[S]. 北京: 国家标准出版社, 2008: 121-122.
- [4] 李小荣. 高效液相色谱法测定醋酸氯己定缓释凝胶中醋酸氯己定的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(19): 1726-1727.
- [5] 卢素格, 刘红丽, 杨瑞春. 高效液相色谱测定皮肤消毒液醋酸氯己定含量[J]. 中国消毒学杂志, 2011, 28(3): 317-318.

[收稿日期] 2014-10-25 [修回日期] 2015-03-18

[本文编辑] 顾文华